



FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**TESIS DOCTORAL**

**BIODISPONIBILIDAD DE METALES PESADOS EN  
DOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS DE LA COSTA  
SURATLÁNTICA ANDALUZA AFECTADOS POR  
CONTAMINACIÓN DIFUSA**

**Juan José Vicente Martorell**  
2010



BIODISPONIBILIDAD DE METALES PESADOS EN DOS  
ECOSISTEMAS ACUÁTICOS DE LA COSTA SURATLÁNTICA  
ANDALUZA AFECTADOS POR CONTAMINACIÓN DIFUSA

Los directores:



**Dra. María Dolores Galindo  
Riaño**

Profesora Titular de Universidad  
del Departamento de Química  
Analítica de la Universidad de Cádiz



**Dr. Manuel García Vargas**  
Catedrático de Universidad del  
Departamento de Química  
Analítica  
de la Universidad de Cádiz



Memoria presentada por

**Juan José Vicente Martorell**

Para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Cádiz dentro del  
programa de doctorado de Química



D. Manuel García Vargas, Catedrático de Química Analítica y Director del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz.

CERTIFICA

Que el presente trabajo, realizado íntegramente en los laboratorios de este Departamento bajo la dirección conjunta de los profesores Dra. Dña. María Dolores Galindo Riaño y Dr. D. Manuel García Vargas y, reúne las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas.

Y para que así conste, expido y firmo el presente certificado, en Puerto Real a tres de mayo de dos mil diez.



Fdo: D. Manuel García Vargas



## AGRADECIMIENTOS





Los trabajos de investigación presentados en esta Memoria han sido realizados gracias a la financiación recibida del Ministerio de Ciencia y Tecnología a través de la concesión de la beca asociada al SubProyecto de Investigación “Biodisponibilidad de Metales en Ecosistemas Acuáticos Afectados por Contaminación Difusa (SEAMET)” (REN2003-09361C03-02) que se engloba en el Proyecto de Investigación “Elaboración y Validación de criterios de Calidad Ambiental en Ecosistemas Costeros Sensibles” (REN2003-09361);

Beca de investigación con cargo a proyecto. Referencia **F/PVGPC2004-181/1**  
(duración 1/09/2004-31/08/2006)



La realización de una tesis doctoral es un ejercicio de superación personal, con el que el doctorando adquiere las herramientas necesarias para ejercer en un futuro, con suerte, una labor de investigación, y con el que aprende a enfrentar los malos momentos y disfrutar de las pequeñas victorias. Sin embargo, la tesis es también un trabajo de equipo en el que el doctorando es la cabeza visible pero que se sostiene sobre la sabia dirección, ayuda, consejo y apoyo de un gran número de personas:

En primer lugar, agradecer a mis directores de tesis, Dña. María Dolores Galindo Riaño, Profesora Titular de Química Analítica de la Universidad de Cádiz y D. Manuel García Vargas, Catedrático de Química Analítica de la Universidad de Cádiz. Ellos son en gran medida artífices de lo bueno del trabajo que aparece recogido en esta memoria, y para mi fortuna son mucho más que mis directores de tesis.

En segundo lugar, quisiera agradecer a aquellos que durante estos años, se han interesado por la marcha de mi trabajo y de mi vida en general, Pilar Martínez, Carlos Moreno, Juan Verdugo y Manuel Pedro Mánuel.

Puede resultar tópico, pero no por eso menos cierto, que durante el desarrollo de este trabajo los compañeros del Grupo de Investigación “Geoquímica Marina”, al cual pertenezco, se han convertido en una segunda familia, desde aquellos que me recibieron en los primeros días de esta aventura, hasta las últimas promesas.

Por eso, en estas líneas quisiera agradecer a José, Antonio, Juana Mari, Pili e Isa que siguen con sus carreras profesionales fuera de la Universidad.

A mis compañeros Abdellah, Hafida colaboradores ocasionales, y a veces no tan ocasionales de mi trabajo, y amigos todos los días.

A mis compañeros de los “mares”, Juan y José, con quienes se puede mantener tanto una discusión futbolística como un debate estadístico.

A la delegación Cubana en el Grupo de “Geoquímica Marina”, Félix y Mirella.

A Carolina, con la que me une una gran amistad que nació y creció a lo largo de muchas anécdotas y viajes en coche a horas muy tempranas.

A Mariló, alguien especial y de las personas que más apoyo me han brindado en estos años.

A Estrella, que también está llegando ya al final del camino y a Marga, M<sup>a</sup> José y Cristina que constituyen la nueva savia del grupo.

A mis compañeros de las campañas de muestreo, Perales, Javi, Mila, con los que he compartido trabajo, experiencias, viajes y muchos madrugones.

A todos los que alguna vez engañé para que me acompañaran en las campañas de toma de muestra.

A Clara, que la intenté engañar y no pude, pero aún así encontró otras formas de ayudarme.

A los compañeros de otros grupos de la universidad que hacen en ocasiones la vida más fácil, José María, Laura, a las compañeras/os del grupo de enología y a Juana Mari, que además de hacer la vida más fácil la sabe hacer más divertida.

A Beni, con el que he pasado una buena parte del tiempo que llevo en la universidad y siempre aprendiendo algo nuevo.

A mis amigos de siempre, a los que tengo un poquito abandonados.

A Gemma, juntos andamos el final de este camino en el cuál nos conocimos y me dió todo lo que necesitaba para poder terminarlo. Sé que siempre puedo contar contigo.

Y por último, aunque no menos importante, a mi familia, mis padres y a mis hermanos Pedro, Migue, a Susi y a mi pequeña sobrinita que está siempre riendo, a mis abuelos, a mis primos y tíos, y en especial a mi tía Mari Carmen, a la que siempre llevo en el recuerdo.

PUBLICACIONES Y  
CONGRESOS



Los trabajos descritos en la presente Memoria se encuentran recogidas en las siguientes publicaciones y comunicaciones a Congresos:

**PUBLICACIONES:**

- ❖ **Vicente-Martorell, J.J.**; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; Granado-Castro, M.D.; “Bioavailability of heavy metals monitoring water, sediments and fish from a polluted estuary”. *Journal of Hazardous Materials*, 162 (2009), 823-836
- ❖ **Vicente-Martorell, J.J.**; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; Granado-Castro, M.D.; “Heavy metal speciation of estuarine sediments affected by acid mine drainage in the Tinto and Odiel Estuary, Spain. Relationship to bioconcentration of fish tissues”. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17 (2008), 1744-1754

**COMUNICACIONES A CONGRESOS:**

- ❖ **Vicente-Martorell, J.J.**; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; “Bio concentration of heavy metals in fish tissues of southatlantic coast of Spain and correlation with metallic speciation of waters and sediments”; JAI- 11ª JORNADAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. Barcelona, noviembre 2005
- ❖ **Vicente-Martorell, J.J.**; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; Granado-Castro, M.D.; “Bioavailability of heavy metals monitoring water, sediment and fish species from a polluted estuary”, EUROANALYSIS XIV. Bruselas, septiembre 2007
- ❖ Granado-Castro, M.D.; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; **Vicente-Martorell, J.J.**; “Speciation of coastal water to assess surface water pollution from south-west of Spain”, EUROANALYSIS XIV. Bruselas, septiembre 2007
- ❖ Oliva, M.; **Vicente-Martorell, J.J.**; Garrido, M.; Perales, J.A.; Galindo-Riaño, M.D.; González de Canales, M.; García-Vargas, M.; Sales, D.; “Analytical methodology for assessment of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) in aquatic environments”, IX INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANALYTICAL METHODOLOGY IN THE ENVIRONMENTAL FIELD. Mallorca, octubre 2007

- ❖ **Vicente-Martorell, J.J.**; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; Granado-Castro, M.D.; “Heavy metal speciation of estuarine sediments affected by acid mine drainage in the Tinto and Odiel estuary, Spain. Relationship to Bioaccumulation of fish tissues”, 14th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region. Sevilla, octubre 2007
- ❖ **Vicente-Martorell, J.J.**; Oliva, M.; Galindo-Riaño, M.D.; González de Canales, M.; García-Vargas, M.; Granado-Castro, M.D.; “Correlaciones entre niveles metálicos y daños histopatológicos encontrados en dorada, *Sparus aurata* y lenguado senegalés, *Solea senegalensis* del golfo de Cádiz” XI REUNIÓN DEL GRUPO REGIONAL ANDALUZ DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUÍMICA ANALÍTICA (GRASEQA 2008). Huelva, junio 2008



## OBJETIVOS



Las áreas costeras, y en particular, aquellas que presentan un confinamiento geográfico y/o reciben aportes fluviales, constituyen ecosistemas especialmente sensibles a la influencia de las actividades antropogénicas e industriales que tienen lugar en su entorno.

El Golfo de Cádiz, comprende desde el cabo de Santa María (Portugal) hasta el cabo de Trafalgar (España), y por extensión es el mayor de la Península Ibérica. En él desembocan dos importantes ríos, Guadiana y Guadalquivir, y una serie de ríos menores entre los que destacan los ríos Tinto y Odiel, en Huelva, y Guadalete, en Cádiz. En el Golfo de Cádiz se localizan ecosistemas costeros "sensibles", considerándose como zonas sensibles aquellos medios acuáticos superficiales que teniendo un intercambio de agua escaso o que recibiendo nutrientes, sean eutróficos o puedan llegar a serlo en un futuro próximo si no se adoptan medidas de protección, así como las aguas dulces de superficie destinadas a la obtención de agua potable, que podrían contener una concentración de nitratos superior a la que establecen las disposiciones vigentes para este tipo de aguas si no se tomasen medidas de protección.

Las principales fuentes de contaminación en las costas del Golfo de Cádiz proceden de los vertidos urbanos e industriales y la contaminación transportada por los ríos, además de haberse visto afectadas por el que está considerado como uno de los episodios de contaminación aguda más importante acaecido en el Sur de España, el accidente minero de Aznalcollar, el cual se produjo por la rotura de la balsa de residuos mineros "Los Frailes", el día 25 de abril de 1998. Entre la contaminación debida a aportes fluviales en el Golfo de Cádiz, la mayor contribución proviene de los ríos Tinto y Odiel, los cuales atraviesan el Cinturón Pirítico Ibérico (CPI), y se unen en su desembocadura para formar un estuario común, el cuál está considerado como uno de los estuarios mas afectados por contaminación metálica del mundo.

La presente Tesis Doctoral forma parte de los trabajos científicos realizados en el proyecto "Elaboración y validación de criterios de calidad ambiental en ecosistemas costeros sensibles". En este proyecto de investigación se han tratado de aunar esfuerzos desde distintas áreas de conocimiento, tratando de alcanzar un objetivo general e interdisciplinar: el

desarrollo de estudios integrados de la franja costera suratlántica de España, con el objetivo específico de elaborar y validar criterios de calidad ambiental en ecosistemas costeros "sensibles", analizando la biodisponibilidad de metales pesados, el efecto de sustancias prioritarias y su impacto en determinadas especies de interés comercial (*Sparus aurata* y *Solea senegalensis*).

Para la consecución de este objetivo global, en este trabajo se han seleccionado dos zonas del Golfo de Cádiz que tienen la consideración de "zonas sensibles", la Bahía de Cádiz y la Ría de Huelva. Dentro de estas zonas, se han elegido cuatro áreas con características naturales y antrópicas diferentes, que van desde una situación de contaminación prácticamente nula prevista en el caño San Pedro en Cádiz (estero "Desamparados"), a las representadas por una alta contaminación en los ríos Tinto y Odiel (frente al "Muelle de la Rábida" y frente a la factoría "Atlantic Cooper" respectivamente), e incluyendo puntos con actividad antropogénica media como el Puente Zuazo en Cádiz, o en el polígono industrial de Palos en Huelva (frente a la refinería "la Rábida").

En cada una de las zonas seleccionadas se han planteado los siguientes objetivos:

- Establecer los niveles totales de metales (As, Cd, Pb, Cu y Zn) presentes en las aguas y los sedimentos, así como conocer la distribución en las distintas fracciones químicas (especiación) en ambos compartimentos medioambientales.
- Cuantificar los niveles de concentración de metales en tejidos de hígado, músculo y branquias en dos especies de peces que presentan una gran importancia económica para la región, *Sparus aurata* (especie pelágica) y *Solea senegalensis* (especie bentónica).
- Identificar las formas químicas más biodisponibles y en consecuencia con mayor potencial tóxico de los metales estudiados, para la evaluación de los efectos tóxicos debida a la contaminación.
- Correlacionar los niveles metálicos presentes en las aguas y sedimentos con la contaminación metálica presente en los tejidos de los peces, evaluando la distribución metálica entre el medio abiótico y biótico.

# ÍNDICE



|   |            |
|---|------------|
| <b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....</b>   | <b>1</b>   |
| I.1. ORIGEN DE LOS METALES PESADOS EN LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS.....                                  | 3          |
| I.2. DISTRIBUCIÓN BIOGEOQUÍMICA DE LOS METALES PESADOS EN LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS .....             | 10         |
| <i>I.2.1. DISTRIBUCIÓN BIOGEOQUÍMICA DE ALGUNOS METALES DE INTERÉS .....</i>                          | <i>17</i>  |
| I.2.1.1. ARSÉNICO .....   | 17         |
| I.2.1.2. CADMIO .....   | 19         |
| I.2.1.3. COBRE .....  | 20         |
| I.2.1.4. PLOMO .....  | 22         |
| I.2.1.5. CINC.....  | 23         |
| I.3. ESPECIACIÓN DE METALES PESADOS EN ECOSISTEMAS ACUÁTICOS .....                                    | 24         |
| <i>I.3.1. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN METÁLICA.....</i>  | <i>27</i>  |
| I.3.1.1. MÉTODOS DE ESPECIACIÓN DIRECTA.....  | 28         |
| I.3.1.2. MÉTODOS DE ESPECIACIÓN COMBINADOS O HÍBRIDOS.....  | 31         |
| I.3.1.3. ESPECIACIÓN BASADA EN MODELOS MATEMÁTICOS .....  | 35         |
| <i>I.3.2. METODOLOGÍA PARA LA ESPECIACIÓN METÁLICA EN LOS COMPARTIMENTOS DEL MEDIO ACUÁTICO .....</i> | <i>38</i>  |
| I.3.2.1. ESPECIACIÓN EN AGUAS NATURALES .....   | 38         |
| I.3.2.2. ESPECIACIÓN EN SEDIMENTOS .....  | 55         |
| <i>I.3.3. ESPECIACIÓN Y BIODISPONIBILIDAD .....</i>   | <i>67</i>  |
| I.4. CARACTER ESENCIAL Y TOXICIDAD DE LOS METALES PESADOS EN LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS .....          | 71         |
| <i>I.4.1. TOXICIDAD DE ALGUNOS METALES DE INTERÉS.....</i>  | <i>75</i>  |
| I.4.1.1. ARSÉNICO .....   | 75         |
| I.4.1.2. CADMIO .....   | 77         |
| I.4.1.3. COBRE .....  | 79         |
| I.4.1.4. PLOMO .....  | 81         |
| I.4.1.5. CINC.....  | 83         |
| I.5. LEGISLACIÓN AMBIENTAL .....  | 85         |
| <b>CAPÍTULO II: METODOLOGÍA .....</b>   | <b>103</b> |

|   |            |
|---|------------|
| II.1. DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO CONTEXTO GEOGRÁFICO .....   | 105        |
| II.1.1. CONTEXTO GEOGRÁFICO .....   | 105        |
| II.1.2. ASPECTOS CLIMATOLÓGICOS .....   | 107        |
| II.1.3. RÍA DE HUELVA: ESTUARIO DE LOS RÍOS TINTO Y ODIEL .....   | 110        |
| II.1.4. BAHÍA DE CÁDIZ .....  | 117        |
| II.1.5. CLASIFICACIÓN DE LAS AGUAS .....  | 125        |
| II.1.6. PUNTOS DE MUESTREO .....  | 128        |
| II.2. NATURALEZA DE LAS MUESTRAS .....  | 131        |
| II.2.1. AGUA .....  | 131        |
| II.2.2. SEDIMENTO .....   | 133        |
| II.2.3. MUESTRAS BIOLÓGICAS .....   | 135        |
| II.2.3.1. DORADA “ <i>Sparus aurata</i> ” .....   | 136        |
| II.2.3.2. LENGUADO “ <i>Solea senegalensis</i> ” .....  | 138        |
| II.3. MATERIAL Y MÉTODOS .....  | 140        |
| II.3.1. METODOLOGÍA DE LA TOMA DE MUESTRAS .....  | 140        |
| II.3.1.1. MUESTRAS DE AGUA .....  | 141        |
| II.3.1.2. MUESTRAS DE SEDIMENTO .....   | 143        |
| II.3.1.3. MUESTRAS DE PECES .....   | 144        |
| II.3.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS .....   | 145        |
| II.3.2.1. METODOLOGÍA DE LOS PARÁMETROS GENERALES .....   | 145        |
| II.3.2.2. ESPECIACIÓN DE Zn, Cd, Pb, Cu EN AGUA .....   | 146        |
| II.3.2.3. ESPECIACIÓN DE As EN AGUA .....   | 149        |
| II.3.2.4. ESPECIACIÓN DE METALES EN SEDIMENTOS .....  | 151        |
| II.3.2.5. ANÁLISIS DE METALES EN MUESTRAS BIOLÓGICAS .....  | 153        |
| II.3.2.6. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO .....   | 156        |
| II.3.3. PROTOCOLOS DE LIMPIEZA .....  | 157        |
| II.3.3.1. PROCEDIMIENTO GENERAL DE LIMPIEZA DE MATERIAL .....   | 158        |
| II.3.3.2. PROCEDIMIENTO LIMPIEZA DEL MATERIAL USADO EN LA TOMA DE MUESTRA .....   | 158        |
| II.3.4. REACTIVOS, DISOLUCIONES E INSTRUMENTAL UTILIZADO .....  | 161        |
| II.3.4.1. REACTIVOS .....   | 161        |
| II.3.4.2. DISOLUCIONES .....  | 162        |
| II.3.4.3. INSTRUMENTACIÓN UTILIZADA .....   | 163        |
| <b>CAPÍTULO III: DISTRIBUCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD DE AS, PB, CD, CU Y ZN EN EL LITORAL ATLÁNTICO SUROESTE DE ESPAÑA .....</b> | <b>167</b> |



|   |            |
|---|------------|
| III.1. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....   | 169        |
| III.1.1. PARÁMETROS MEDIDOS IN SITU .....   | 169        |
| III.1.2. PARÁMETROS GENERALES.....  | 175        |
| III.2. DISTRIBUCIÓN METÁLICA EN LA RÍA DE HUELVA .....                              | 180        |
| III.2.1. CONTENIDO METÁLICO EN AGUA .....   | 180        |
| III.2.1.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN AGUA .....  | 180        |
| III.2.1.2. DISTRIBUCIÓN METÁLICA ENTRE LAS FASES DISUELTA Y PARTICULADA .....       | 185        |
| III.2.1.3. ESPECIACIÓN DE Zn, Cd, Cu y Pb DISUELTO .....                            | 192        |
| III.2.1.4. ESPECIACIÓN DE As DISUELTO .....   | 205        |
| III.2.2. CONTENIDO METÁLICO EN SEDIMENTO .....                                      | 208        |
| III.2.2.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN SEDIMENTO .....                                   | 208        |
| III.2.2.2. ESPECIACIÓN METÁLICA EN LOS SEDIMENTOS .....                             | 213        |
| III.2.3. CONTENIDO METÁLICO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS.....                             | 222        |
| III.3. DISTRIBUCIÓN METÁLICA EN LA BAHÍA DE CÁDIZ.....                              | 245        |
| III.3.1. CONTENIDO METÁLICO EN AGUA .....   | 245        |
| III.3.1.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN AGUA .....  | 245        |
| III.3.1.2. DISTRIBUCIÓN METÁLICA ENTRE LAS FASES DISUELTA Y PARTICULADA .....       | 250        |
| III.3.1.3. ESPECIACIÓN DEL Zn, Cd, Cu y Pb DISUELTO .....                           | 256        |
| III.3.1.3 ESPECIACIÓN DE As DISUELTO .....  | 267        |
| III.3.2. CONTENIDO METÁLICO EN SEDIMENTO .....                                      | 270        |
| III.3.2.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN SEDIMENTO .....                                   | 270        |
| III.3.2.2. ESPECIACIÓN METÁLICA EN LOS SEDIMENTOS .....                             | 275        |
| III.3.3. CONTENIDO METÁLICO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS.....                             | 284        |
| <b>CAPÍTULO IV: COMPARACIÓN DEL CONTENIDO METÁLICO.....</b>                         | <b>307</b> |
| IV.1. COMPARACIÓN ENTRE LOS PUNTOS DE MUESTREO .....                                | 309        |
| IV.2. COMPARACIÓN CON OTROS ECOSISTEMAS.....  | 317        |
| IV.3. COMPARACIÓN CON VALORES DE REFERENCIA.....                                    | 326        |
| IV.3.1. COMPARACIÓN CON VALORES EN LAS MUESTRAS DE AGUAS.....                       | 326        |
| IV.3.2. COMPARACIÓN CON VALORES EN LAS MUESTRAS DE SEDIMENTOS .....                 | 329        |
| IV.3.3. COMPARACIÓN CON VALORES EN LAS MUESTRAS DE PECES .....                      | 333        |
| <b>CAPÍTULO V: RELACIÓN METÁLICA ENTRE COMPARTIMENTOS Y BIODISPONIBILIDAD .....</b> | <b>343</b> |

|  |            |
|--|------------|
| <b>CAPÍTULO VI: ESTUDIO DE LOS PATRONES DE CONTAMINACIÓN METÁLICA ESPACIAL, TEMPORAL Y POR COMPARTIMENTOS EN EL GOLFO DE CÁDIZ MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL ANÁLISIS TUCKER DE TRES VÍAS .....</b> | <b>369</b> |
| VI.1. ESTUDIO ESPACIO-TEMPORAL DE LAS VARIABLES FÍSICOQUÍMICAS Y LOS VALORES METÁLICOS EN AGUA Y SEDIMENTO .....   | 374        |
| VI.2. ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y ENTRE TEJIDOS DE LOS METALES EN PECES .....  | 382        |
| <b>CONCLUSIONES .....</b>  | <b>393</b> |
| <b>ANEXOS .....</b>  | <b>403</b> |
| A.1. VALIDACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DEL PRESENTE ESTUDIO .....  | 405        |
| A.1.1. VALIDACIÓN DEL EQUIPO DE ANÁLISIS METROHM PARA MEDIDAS DE LAS MUESTRAS DE AGUA POR DPASV.....   | 405        |
| A.1.2. VALIDACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE SEDIMENTO .....  | 406        |
| A.1.3. VALIDACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS....  | 407        |
| A.2. ANÁLISIS DE BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN PARA EL ANÁLISIS DE METALES EN ECOSISTEMAS ACUÁTICOS .....   | 410        |
| A.2.1. BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN EN EL ANÁLISIS DE METALES EN AGUA .....  | 410        |
| A.2.1.1. ESPECIACIÓN Zn, Cd, Pb y Cu .....   | 410        |
| A.2.1.2. ESPECIACIÓN As.....   | 411        |
| A.2.2. BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN EN EL ANÁLISIS DE METALES EN SEDIMENTOS.....   | 412        |
| A.2.3. BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN EN EL ANÁLISIS DE METALES EN PECES.....  | 413        |
| A.3. BASE DATOS DE LOS METALES EN CADA UNOS DE LOS COMPARTIMENTOS ACUÁTICOS .....  | 414        |
| A.3.1. DATOS DE CONCENTRACIÓN DE LA ESPECIACIÓN METÁLICA EN LAS MUESTRAS DE AGUA .....   | 414        |
| A.3.2. DATOS DE CONCENTRACIÓN DE LA ESPECIACIÓN METÁLICA EN LAS MUESTRAS DE SEDIMENTO.....   | 437        |
| A.3.3. DATOS DE CONCENTRACIÓN METÁLICA EN LAS MUESTRAS DE PECES .....  | 440        |
| A.3.4. DATOS BIOLÓGICOS DE LOS PECES .....   | 457        |

|   |            |
|---|------------|
| A.4. TABLAS ESTADÍSTICA .....                                     | 464        |
| A.4.1. ESTUDIO DE LA NORMALIDAD Y HOMOGENEIDAD DE LOS DATOS ..... | 464        |
| A.4.1.1. RÍA DE HUELVA .....                                      | 464        |
| A.4.1.2. BAHÍA DE CÁDIZ .....                                     | 490        |
| A.4.1.3. PRUEBAS PARA EL FACTOR DE CONDICIÓN DE PECES .....       | 502        |
| <b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>   | <b>505</b> |



# CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN



## **I.1. ORIGEN DE LOS METALES PESADOS EN LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS**

---

Actualmente, la denominación de *metal pesado* se utiliza en muchas ocasiones como sinónimo de contaminante inorgánico o elemento traza potencialmente tóxico. Sin embargo, no se dispone de una definición oficial generalmente aceptada. Aunque, se han empleado diversos criterios o pautas para definir los metales pesados. Entre las principales propiedades consideradas para ello, se cuentan, la masa atómica y el peso atómico [LIBES, 1992; KENNISH, 1996], así como la densidad, considerándose como metales pesados aquellos elementos metálicos con densidad superior a  $4,5 \text{ g cm}^{-3}$  (Ag, Au, Bi, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Hg, Ho, In, Ir, La, Lu, Mn, Mo, Nb, Nd, Ni, Os, Pb, Pd, Pr, Pt, Ra, Re, Rh, Ru, Sb, Sm, Sn, Ta, Tb, Th, Ti, Tl, Tm, U, V, W, Yb, Zn, Zr) [GADD y GRIFFITHS, 1978].

Desde el punto de vista de la Oceanografía Química, dado que sus concentraciones en agua natural suelen encontrarse a niveles inferiores a  $50 \text{ nmol L}^{-1}$ , se incluyen dentro del grupo conocido como elementos traza, los cuales, a pesar de sus bajos niveles de concentración, poseen importantes implicaciones a nivel químico y biológico en los sistemas acuáticos naturales [NIEBOER y RICHARDSON, 1980; FERNÁNDEZ-TURIEL y col., 1995]

Los metales pesados pueden, a su vez, clasificarse en dos grupos. El primero engloba a los denominados *esenciales* u *oligoelementos*, que son aquellos elementos que resultan necesarios para que los organismos vivos completen su ciclo vital, siendo requeridos en cantidades pequeñas y que, pasado un cierto umbral, pueden ser *tóxicos*. El segundo grupo está constituido por aquellos metales pesados que no presentan una función biológica conocida y que, al igual que los anteriores, resultan tóxicos cuando se supera un determinado nivel.

Los metales pesados en el medioambiente pueden tener distintas fuentes, un origen natural cuando proceden del material originario, o un origen antropogénico cuando provienen de actividades humanas contaminantes [APTE y col. 2002; BRADL, 2005].

Se considera que la principal fuente natural de metales pesados en el medioambiente son las rocas y los suelos. Los metales pesados contenidos en las redes de los minerales son liberados a través de la meteorización, proceso consistente en un desgaste geológico que conlleva unos procesos sinérgicos de desgaste mecánico y químico. Cuanto menores sean los fragmentos, mayor es la superficie disponible para el ataque químico y cuanto más débiles sean los trozos más susceptibles son a la quiebra. En la **Tabla I.1** se muestran los elementos trazas de las rocas más comunes que forman los minerales [BRADL, 2005].

**TABLA I.1.** Elementos trazas de las rocas más comunes que forman los minerales [BRADL, 2005].

| MINERAL    | ELEMENTOS TRAZA                           | RESISTENCIA AL DESGASTE |
|------------|---|-------------------------|
| Olivino    | Ni, Co, Mn, Li, Cu, Mo                    | Débil                   |
| Hornblenda | Ni, Co, Mn, Se, Li, V, Zn, Cu, Ga         | Débil                   |
| Augita     | Ni, Co, Mn, Se, Li, V, Zn, Pb, Cu, Ga     | Débil                   |
| Biotita    | Rb, Ba, Ni, Co, Mn, Se, Li, V, Zn, Cu, Ga | Débil                   |
| Apatito    | Elementos de las tierras raras, Pb, Sr    | Débil                   |
| Anortita   | Sr, Cu, Ga, Mn                            | Débil                   |
| Andesita   | Sr, Cu, Ga, Mn                            | Débil                   |
| Oligoclasa | Cu, Ga                                    | Débil                   |
| Albita     | Cu, Ga                                    | Débil                   |
| Granate    | Mn, Cr, Ga                                | Intermedio              |
| Ortoclasa  | Rb, Ga, Sr, Cu, Ga                        | Intermedio              |
| Moscovita  | F, Rb, Ba, Sr, Cu, Ga, V                  | Intermedio              |
| Titanita   | Elementos de las tierras raras, V, Sn     | Intermedio              |
| Ilmenita   | Co, Ni, Cr, V                             | Intermedio              |
| Magnetita  | Zn, Co, Ni, Cr, V                         | Intermedio              |
| Turmalina  | Li, F, Ga                                 | Intermedio              |
| Circonio   | Hf, U                                     | Intermedio              |
| Cuarzo     | -   | Resistente              |

Una consecuencia del proceso anterior es que una gran parte de los metales, tanto en forma particulada como disuelta, son transportados por las aguas de los ríos y, en menor medida, por las aguas subterráneas. Algunos de los metales pesados asociados a la materia particulada pueden sufrir procesos de desorción cuando el agua del río entra en contacto con el agua de mar,



cuya fuerza iónica es notablemente superior. Los metales pesados retenidos en los sedimentos también pueden ser resuspendidos hacia el agua, e incorporarse al medioambiente debido fundamentalmente a fenómenos de remoción por agitación física del fondo, bien por causas de origen natural (lluvias y tormentas) o por actividades antropogénicas (dragados) [MARTINO y col., 2002].

Otras fuentes naturales de metales pesados en el medioambiente ocurren a través de los aportes atmosféricos, como las erupciones volcánicas, las cenizas volantes y los incendios, que incrementan posteriormente los niveles de metales en el suelo; si bien las dos últimas pueden verse acentuadas por la actividad humana.

Los contenidos naturales de los metales pesados en el medioambiente pueden verse incrementados por muchas de las actividades humanas [BUBB y LESTER, 1991]. Así mismo, los metales pesados son empleados en una gran variedad de productos industriales, que a largo plazo tienen que ser depositados como residuos. La liberación de metales pesados en el medioambiente se produce desde el principio de la cadena de producción, por las actividades de minería de los minerales, durante el uso de los productos industriales que los contienen, y también al final de la cadena de producción. En la **Tabla 1.2** se presenta una visión general de los múltiples usos y productos que contienen metales pesados. Si las principales fuentes naturales de los metales pesados al medioambiente son: las rocas y suelos, las principales fuentes antropogénicas son las actividades agrícolas, en las que se utilizan ampliamente los fertilizantes, abonos de animales y plaguicidas que contienen metales pesados; las actividades metalúrgicas, en las que se incluyen la minería, la fundición, el acabado metálico y otros; la energía tanto en su producción como en su transporte; los productos microelectrónicos; y por último, la deposición de residuos [BRADL, 2005; ZHOU y col., 2008].

**TABLA 1.2.** Usos y fuentes antropogénicas de metales pesados a través de los cuales pueden ser introducidos al medioambiente [BRADL, 2005].

|    |   |
|----|---|
| As | Aditivo en la alimentación animal, protector de la madera (arseniato de cobre cromado), vidrios especiales, cerámicas, plaguicidas, insecticidas, herbicidas, fungicidas, raticidas, algicidas, componentes electrónicos (circuitos integrados, diodos, detectores infrarrojos), tecnología láser, fundición no ferrosa, metalurgia, generación eléctrica geotérmica, textil y curtido, pigmentos y pinturas antiincrustante, filtros de luz, medicina veterinaria. |
| Be | Aleación (con Cu), aislantes eléctricos en transistores de potencia, deflectores de neutrones en reactores nucleares.   |
| Cd | Baterías Ni/Cd, pigmentos, revestimientos anticorrosivos de metal, aleaciones, en la combustión del carbón, absorbentes de neutrones en los reactores nucleares.  |
| Co | Metalurgia (en superaleaciones), cerámicas, vidrios, pinturas.  |
| Cr | Fabricación de aleaciones de hierro (aceros especiales), planchas, pigmentos, textiles y curtido de pieles, en la pasivación de la corrosión de los circuitos de refrigeración, en el tratamiento de la madera, en equipos de video y almacenamiento de datos.  |
| Cu | Conductor del calor y la electricidad, tuberías de agua, techos, utensilios de cocina, productos químicos y farmacéuticos, pigmentos, aleaciones.   |
| Fe | Fundición, hierro forjado, acero, aleaciones, en la construcción, transporte.   |
| Hg | Extracción de metales por amalgamación, cátodo móvil en la celda cloroálcali para la producción de NaCl y Cl <sub>2</sub> a partir de salmuera, en aparatos eléctricos y de medida, fungicidas, productos farmacéuticos, empastes dentales, en instrumentación científica, electrodos, lámparas de vapor de mercurio, tubos de rayos X, en soldaduras.  |
| Mn | Producción de aceros de ferromanganeso, dióxido de manganeso electrolítico para su uso en baterías, aleaciones, catalizadores, fungicidas, agentes antidetonantes, pigmentos, secadores, protectores de la madera, revestimiento de varillas de soldadura.  |
| Mo | Elemento de aleación en el acero, fundición de hierro, catalizadores, colorantes, lubricantes, inhibidores de corrosión, retardantes de la llama, represores de humos, galvanoplastia.  |
| Ni | Aleación en la industria del acero, galvanoplastia, baterías de Ni/Cd, arco de soldadura, barras, pigmentos para pinturas y cerámica, prótesis dentales y quirúrgicas, moldes para cerámica y vidrio, componentes informáticos, catalizadores.  |
| Pb | Agentes antidetonantes, baterías de plomo-ácido, pigmentos, vidrios, cerámica, plásticos, aleaciones, láminas, cables, soldadura, tuberías.   |
| Sb | Aleación de metales (con plomo para evitar la corrosión), en aplicaciones eléctricas, fabricación de municiones, semiconductores, medicamentos para enfermedades parasitarias, en la combustión de combustibles fósiles.  |
| Se | En la industria del vidrio, semiconductores, termoelementos, células fotoeléctricas, materiales xerográficos, pigmentos inorgánicos, la producción de caucho, de acero inoxidable, lubricantes, tratamiento de la caspa.  |
| Sn | Latón, bronce, amalgamas dentales, estabilizantes, catalizadores, plaguicidas.  |
| Ti | Pigmentos blancos (TiO <sub>2</sub> ), como agentes de filtrado de los rayos UV, agente de nucleación para cristales y cerámicas, en aeronáutica.   |
| Tl | Aleaciones (con Pb, Ag, Au) con propiedades especiales, en la industria de la electrónica, para sistemas ópticos de infrarrojos, como catalizador, termómetros de profundidad.  |
| V  | Producción de acero, aleaciones, catalizador.   |
| Zn | Aleaciones de Zn (bronce, latón), revestimiento contra la corrosión, pilas, latas, PVC, estabilizantes, en medicamentos y productos químicos, industria del caucho, pinturas, soldadura.  |

Con respecto a los ecosistemas acuáticos, aunque numerosos factores pueden alterar la concentración y distribución natural de los *metales pesados* en el agua de mar, las modificaciones más importantes tienen lugar sobre todo en aquellas zonas que pueden considerarse interfases con el medio marino: líquido-líquido (zonas de estuarios), sólido-líquido (zonas costeras, fondo marino), gas-líquido (atmósfera-mar). Sin embargo, también han de tenerse en cuenta factores, que pueden modificar su concentración y distribución, como son los movimientos de las masas de aguas, en sentido vertical (circulación vertical) y en sentido horizontal (corrientes marinas), así como las causas de origen biológico.

En las profundidades oceánicas, las erupciones volcánicas y las emisiones hidrotermales, son las principales vías naturales de incorporación de los *metales pesados*, mientras que en las áreas costeras, las vías preferentes de adición de *metales pesados* al medio marino provienen de los aportes atmosféricos y fluviales [CENSI y col., 2006; CARMAN y col., 2007]. Estos últimos son los medios más importantes de insumos de *metales pesados*, puesto que el agua de los ríos suele contener mayor concentración que el agua de mar, sobre todo si el río está sujeto a procesos de polución antropogénica. Como consecuencia, en zonas costeras y de estuarios, las concentraciones de metales pesados suelen ser apreciablemente superiores a las presentes en el agua de mar oceánica. Así, los ríos junto con aportes derivados de actividades antropogénicas y otros aportes naturales en las áreas costeras, determinan un gradiente de concentración de metales que disminuye a medida que aumenta la distancia respecto a la costa.

La **Tabla I.3** recoge intervalos típicos de concentración mínimo y máximo de diversos *metales pesados* en aguas de río, aguas costeras, bahías y estuarios y aguas oceánicas [CROMPTON, 1997]. Estos datos deben ser considerados únicamente como orientativos, aunque pueden ofrecer una visión general para situar los ecosistemas marinos que se estudian dentro de los patrones habituales con que estos metales suelen presentarse en sistemas semejantes.

**TABLA 1.3.** Intervalos de concentración (nmol L<sup>-1</sup>) característicos de metales en aguas de río (R), costeras (C) y oceánicas (O) [CROMPTON, 1997].

| METAL | AGUA DE RÍO      |                  | AGUAS COSTERAS, BAHÍAS Y ESTUARIOS |                  | AGUAS OCEÁNICAS SUPERFICIALES |                  | RELACIÓN                           |                                    |
|-------|------------------|------------------|------------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|------------------------------------|------------------------------------|
|       | R <sub>min</sub> | R <sub>max</sub> | C <sub>min</sub>                   | C <sub>max</sub> | O <sub>min</sub>              | O <sub>max</sub> | R <sub>max</sub> /C <sub>min</sub> | C <sub>max</sub> /O <sub>min</sub> |
| Al    | 2705             | 233506           | 237                                | 2335             | 3,71                          | 22,24            | 985                                | 630                                |
| As    | 5,61             | 6540             | 13,35                              | 13,88            | -                             | -                | 490                                | -                                  |
| Cd    | 0,27             | 44,48            | 0,13                               | 44,48            | 0,089                         | 1,12             | 342                                | 500                                |
| Cr    | 0,96             | 442              | 1,83                               | 63,46            | 0,096                         | 24,23            | 242                                | 600                                |
| Co    | 3,39             | 169,7            | < 0,17                             | 4,24             | 0,051                         | 2,72             | >1000                              | 83                                 |
| Cu    | 1,73             | 3147             | 1,09                               | 315              | 0,099                         | 44,06            | 2887                               | 3200                               |
| Fe    | 17,91            | 70277            | 17,91                              | 4476             | 3,58                          | 5765             | 3924                               | 1250                               |
| Pb    | 0,63             | 290              | 0,18                               | 35,91            | 0,00020                       | 43,43            | 1611                               | 181500                             |
| Mn    | 17,66            | 33400            | 6,37                               | 4550             | 0,33                          | -                | 5243                               | 13900                              |
| Hg    | 0,045            | 6,48             | 0,00010                            | 75,28            | 0,010                         | 0,39             | 64800                              | 7550                               |
| Mo    | 7,71             | 42,73            | 21,89                              | 2085             | 33,35                         | 125              | 1,95                               | 63                                 |
| Ni    | 25,56            | 74,97            | 3,41                               | 90,82            | 2,56                          | 15,85            | 22                                 | 36                                 |
| V     | 1,96             | 471              | 0,20                               | 100              | 8,83                          | 39,26            | 2355                               | 11,3                               |
| Zn    | 13,15            | 9635             | 0,11                               | 3059             | 0,76                          | 167              | 87590                              | 4000                               |

Una conclusión interesante, que se extrae de los datos de esta tabla, es la gran diferencia que existe entre los niveles para los distintos metales, sobre todo en cuanto a sus límites superiores, es decir, puede comprobarse como en general, las concentraciones máximas en las aguas de los ríos son superiores a las del agua mar. Esto se debe a la intervención de agentes moduladores, bien sea actuando como fuentes o como sumideros, sobre la distribución de los *metales pesados* en los sistemas ambientales costeros. Este efecto se puede apreciar con mayor claridad si se comparan las concentraciones de estos metales en aguas costeras, bahías y estuarios con los valores encontrados en aguas oceánicas, donde la influencia de estos agentes es notablemente inferior.

Al igual que se producen aportes de metales pesados al medio acuático de origen natural y antropogénico, existen una serie de procesos que contribuyen a disminuir la concentración de los mismos en el medio acuático: adsorción sobre la superficie de partículas, precipitación, coprecipitación y la incorporación a la biota. No obstante, algunos de estos fenómenos pueden

tener carácter reversible, produciendo una redisolución de los metales asociados a esas especies mediante desorción, disolución y/o procesos biológicos [GREENAWAY y RANKINE JONES, 1992].

**Procesos de sorción de metales pesados:** La mayor parte de la materia particulada en los medios acuáticos (arcillas, óxidos hidratados metálicos y materia orgánica particulada) posee una carga negativa neta, que le confiere carácter coloidal. Por tanto, los cationes metálicos son electrostáticamente atraídos hacia su superficie. Algunas de estas partículas, enriquecidas de metales pesados, se hunden hasta depositarse en el fondo. El grado en el que tiene lugar este fenómeno depende, entre otros factores, de la naturaleza del metal, la abundancia de materia particulada, la concentración de otros solutos y la profundidad de la columna de agua [FORSTNER y WITMANN, 1983].

**Precipitación:** En el agua natural predominan los cloruros, sulfatos y bicarbonatos. Aunque, en general, las formas químicas de los metales pesados asociados a estas especies son bastante solubles, las características del agua natural pueden producir la precipitación de éstas bajo determinadas condiciones. En el caso de los hidróxidos, esta solubilidad disminuye con el aumento del pH, lo que puede producir la precipitación de estos compuestos en condiciones básicas. Por otro lado, los sulfuros de los metales pesados son prácticamente insolubles al pH de las aguas naturales, mientras que la solubilidad de los carbonatos es altamente dependiente de la presión parcial de  $\text{CO}_2$ , aumentando en su presencia [FORSTNER y WITMANN, 1983]. En el caso particular de las zonas de estuario se ha detectado la disminución de la concentración de metales procedentes del aporte fluvial y que se origina, entre otras razones, por la aparición de fenómenos de precipitación fundamentalmente debidos a los cambios de pH y fuerza iónica que tienen lugar en las zonas de mezcla de aguas dulces y marinas. Por otro lado, en las aguas porosas e intersticiales de los sedimentos, bajo condiciones anóxicas generadas por la oxidación de la materia orgánica particulada, ciertas bacterias reducen el sulfato a sulfuro, el cual puede formar con los metales pesados sulfuros metálicos, que presentan muy baja solubilidad, favoreciendo la precipitación y coprecipitación [GREENAWAY y RANKINE JONES, 1992].

**Incorporación a la biota:** Los organismos vivos también influyen en el contenido y distribución de los metales pesados [WANG y DEI, 2001;

VASCONCELOS y LEAL, 2001; GOBLER y col., 2002; VASCONCELOS y col., 2002; OZTÜRK y col., 2003;]. En este sentido, por ejemplo, el fitoplancton incorpora metales pesados para emplearlos en determinados sistemas enzimáticos que catalizan procesos como la glicolisis, el ciclo del ácido tricarboxílico, la fotosíntesis y el metabolismo de las proteínas; y el zooplancton y la fauna bentónica, que se alimentan por filtración, acumulan metales pesados presentes en los sedimentos [BRULAND, 1983]. A este tenor, se considera que la actividad biológica es responsable de más del 90% del transporte vertical de metales pesados en la columna de agua [BRYAN, 1976].

## ***I.2. DISTRIBUCIÓN BIOGEOQUÍMICA DE LOS METALES PESADOS EN LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS***

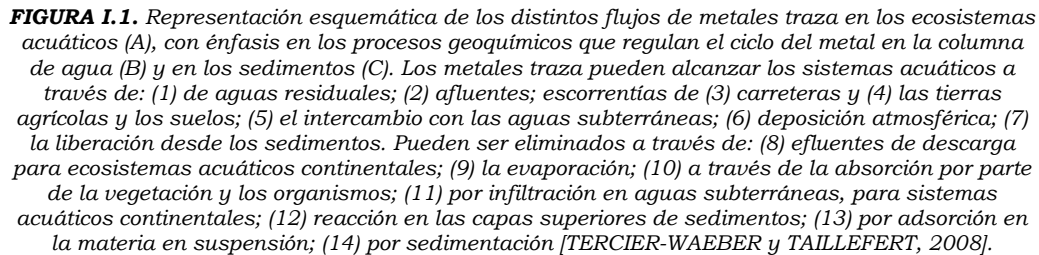
---

En general, el medio marino es un sistema fundamentalmente acuático compuesto por una serie de compartimentos interrelacionados entre sí y en el que se desarrollan procesos físicos, químicos, geológicos y biológicos. Aunque el agua de mar es el constituyente más característico del medio marino, en estos sistemas han de englobarse otra serie de compartimentos, entre los que se incluyen fundamentalmente materias sólidas (partículas en suspensión y fondos marinos sedimentarios y rocosos) y biota (seston, bentos y necton), estableciéndose interacciones entre todos ellos mediante procesos de transporte de masas y transferencias de energía, lo cual puede conllevar cambios, ya sea a escala local o global, en la composición química de los mismos. En este sentido, es de destacar las importantes interacciones que este medio tiene con la Atmósfera (mediante intercambio de gases, deposición de partículas atmosféricas,...), con la Litosfera (aportes por meteorización y lixiviación de rocas,...) y con la Hidrosfera (aportes fluviales,...). Además hay que tener en consideración la influencia antropogénica, que puede manifestarse tanto de manera directa sobre el medio marino como indirectamente también a través de los mencionados compartimentos.

Los metales son persistentes, es decir, no pueden ser creados o degradados, ni mediante procesos biológicos ni antropogénicamente. Una vez que han entrado en los ecosistemas acuáticos (**Figura I.1A**), se transforman a través de procesos biogeoquímicos y se distribuyen entre varias especies con

distintas características físico-químicas (**Figura I.1B**), por ejemplo material particulado ( $>0,45\ \mu\text{m}$ ), coloidal ( $1\ \text{nm}-0,45\ \mu\text{m}$ ) y especies disueltas ( $\leq 1\ \text{nm}$ ). En estas últimas especies se incluyen los iones metálicos hidratados, los cuales suelen ser considerados como la fracción metálica más biodisponible, así como los complejos metálicos orgánicos e inorgánicos con ligandos de origen natural o antropogénico, los cuales son potencialmente biodisponibles (**Figura I.1B**). La materia particulada y coloidal, tanto orgánica como inorgánica, desempeña un papel clave en la coagulación, la sedimentación y en los procesos de adsorción, los cuales influyen en los tiempos de residencia y transporte de los metales trazas desde la columna de agua a los sedimentos. Los metales transportados hasta los sedimentos pueden ser bien depositados o bien removilizados a través de diversos procesos diagenéticos (**Figura I.1C**), como la reducción de manganeso e hierro en la mineralización de la materia orgánica o la reacción con sulfuros producidos durante la reducción de sulfato. Dado que las transformaciones entre diversas especies de metal, que a menudo implican cambios en la coordinación de los enlaces y/o cambios en el estado de oxidación, pueden ocurrir de forma continua, el destino de los metales trazas en los ecosistemas acuáticos depende en gran medida de las especies, las cuales pueden coexistir y pueden o no estar en equilibrio termodinámico. Estos cambios son normalmente reversibles en escalas de tiempo que varían en función del elemento, con la consecuencia importante de que la especiación de un metal es función de las condiciones biofísicoquímicas del medio en el cual se encuentra, y por tanto puede variar en función del tiempo y del espacio. Variaciones en la proporción de las especies presentes afectan a la biodisponibilidad de los metales traza, su grado de adsorción en los coloides y partículas, y en general a la movilidad en la columna de agua y sus tasas de transferencia a través de la interfaz agua-sedimento [TERCIER-WAEBER y TAILLEFERT, 2008].

Los procesos biogeoquímicos más importantes que regulan la movilidad de los metales pesados en los medios acuáticos, incluyen los procesos de adsorción, las reacciones redox, así como los procesos de meteorización. Estos procesos están influenciados a su vez por una serie de factores químicos tales como pH, el potencial redox, y la especiación química de los metales [BRADL y col., 2005].



12



cuatro tipos de comportamiento: tres categorías principales y otra categoría adicional de comportamiento mixto [WHITFIELD y TURNER, 1987; FURNESS y RAINBOW, 1990].

*Metales conservativos*, los cuales suelen mantener una proporcionalidad en sus niveles, aunque la mayoría no se encuentra a concentraciones tan altas porque no son muy abundantes en los materiales que forman la corteza terrestre. En general, las concentraciones de estos metales se modifican únicamente por los procesos de mezcla de las masas de agua que poseen concentraciones diferentes a consecuencia de aporte o eliminación de agua, principalmente por precipitación y evaporación. Los metales conservativos interaccionan débilmente con las partículas (esta característica refleja su baja reactividad geoquímica) por lo que tienen tendencia a permanecer disueltos en el agua de mar, y, en consecuencia, sus tiempos de residencia en los océanos son muy elevados. Entre los elementos conservativos se hallan desde elementos mayoritarios como  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  hasta elementos minoritarios y traza, bien en forma iónica libre como  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Tl}^+$ , o bien formando complejos inorgánicos como  $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ ,  $\text{UO}_2^{2+}$ ,  $\text{MoO}_4^{2-}$  y compuestos organometálicos, como  $\text{CH}_3\text{Ge}(\text{OH})_3$  y  $(\text{CH}_3)_2\text{Ge}(\text{OH})_2$ .

*Metales reciclables*, presentan un comportamiento que permite asociarlos a los ciclos biológicos de los organismos vivos, los cuales determinan en gran medida sus concentraciones en forma disuelta en el agua. Su perfil vertical de concentraciones se caracteriza por bajos valores en la superficie, debido a la asimilación por el fitoplancton y/o sorción sobre partículas biogénicas, observándose un incremento de concentración con la profundidad, cuyo origen es debido al hundimiento de material detrítico, el cual sufre procesos de descomposición microbiana de los componentes orgánicos y/o disolución de los componentes inorgánicos, lo que hace que vuelvan a pasar a disolución. Las correlaciones entre estos metales y los micronutrientes (fosfato, nitrato y silicio disueltos) indican que están involucrados en el flujo de materia particulada de origen biológico. Los metales incluidos en este grupo presentan tiempos de residencia intermedios. Entre los elementos que pueden englobarse en este grupo están V, Cr, Ni, Zn, Ag y Cd.

*Metales depositables*, aquellos metales que presentan un elevado grado de afinidad por la materia particulada, cuyo comportamiento es claramente no

conservativo y se caracterizan por tiempos de residencia relativamente cortos. Debido a sus grandes afinidades por las partículas en suspensión, sus concentraciones en disolución disminuyen con la distancia a la fuente de dichos elementos (ríos, polvo atmosférico, fuentes hidrotermales, sedimentos contaminados), a consecuencia de la deposición sobre el fondo marino de las partículas a las que se asocian. Un metal que describe un comportamiento típico es el Al, aunque también presentan este tipo de comportamiento Mn, Co, As, Hg, Pb y Bi.

*Metales intermedios*, algunos metales, como Fe y Cu, exhiben distribuciones que están influenciadas tanto por procesos de reciclaje como de asociación a la materia particulada. Al igual que los elementos reciclables, Fe y Cu disueltos se encuentran en aguas de elevada productividad, a bajas concentraciones en la superficie y a mayores a medida que aumenta la profundidad. Sin embargo, en aguas menos productivas o en zonas en las que los aportes atmosféricos son importantes sus concentraciones en las proximidades de la superficie son elevadas observándose un comportamiento más próximo a las características de los metales depositables. También, manifiestan este comportamiento Ti y Zr.

**Reacciones redox.** El estado de oxidación de los iones metálicos depende de las condiciones redox encontradas en el medioambiente, produciéndose cambios en los estados de oxidación asociados a cambios en estas condiciones. Los metales Hg, As, Se, Cr, Mn y Fe son especialmente sensibles a dichos cambios. Los principales factores que controlan el potencial redox son el pH y la temperatura. En medios bajo condiciones reductoras, los metales pesados son retirados del compartimento acuático como minerales de sulfuro. En medios ligeramente reductores u oxidantes y con rangos de pH ácidos, los metales Fe y Mn se solubilizan cuando Fe (III) y Mn (IV), que se encuentran en forma de oxihidróxidos, se reducen a las especies solubles [BRADL y col., 2005].

Las condiciones redox de los distintos compartimentos (columna de agua, sedimento) de un ecosistema acuático pueden verse afectadas por la composición y función biológica de estos compartimentos. La biota influye en las condiciones redox del medio a través de dos procesos, la fotosíntesis y la respiración celular que conforman el ciclo de la energía y el carbono. Ambos

procesos afectan tanto al contenido de carbono orgánico e inorgánico, como al contenido de oxígeno y de protones del medio [WARREN y HAACK, 2001].

**La meteorización** se refiere, como se ha indicado anteriormente, a la desintegración y alteración de las rocas y minerales teniendo como resultado la formación de suelos a través de procesos físicos, biológicos y químicos o por procesos biogeoquímicos. Los agentes meteorológicos y los organismos vivos ayudan a la meteorización de minerales primarios para formar minerales secundarios, lo cual provoca la liberación de los constituyentes solubles entre los que se encuentran nutrientes esenciales (por ejemplo, P, K, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, etc.)

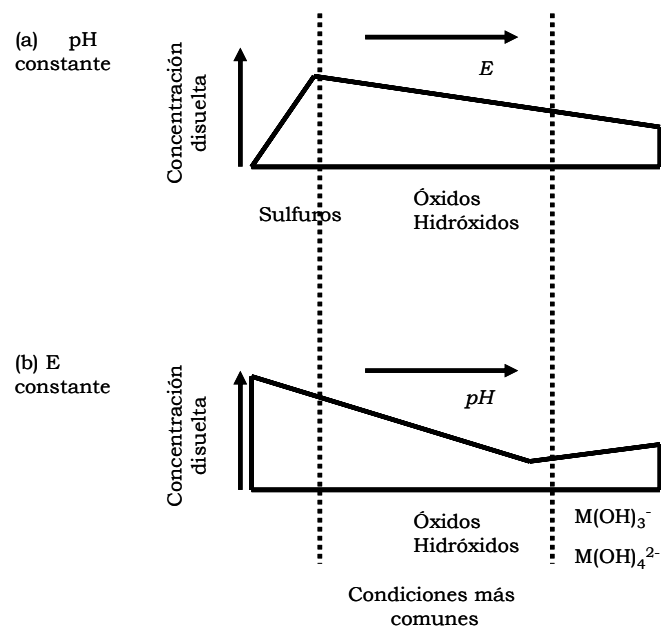
El clima es el factor más importante en el proceso de meteorización. La meteorización puede ser tanto física como química. La meteorización química necesita del agua, por eso en los climas áridos predomina la meteorización física; por el contrario en los climas templados y cálidos son los procesos biogeoquímicos los responsables en mayor medida de la formación de arcillas. Los procesos biogeoquímicos más importantes implicados en la meteorización incluyen los procesos bióticos (por ejemplo, los procesos de descomposición de la materia orgánica, la respiración de la biomasa (se libera  $\text{CO}_2$  y es posible la formación de  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) y la liberación de materia húmica y otros ácidos orgánicos) y los factores geoquímicos (por ejemplo, la oxidación-reducción, hidrólisis, carbonatación, precipitación-disolución, reacciones ácido-base, etc.) [ADRIANO, 2001]

Los procesos biogeoquímicos anteriormente mencionados, se ven afectados por muchos factores, entre los cuales el pH, las condiciones redox y la concentración de ligandos orgánicos han sido considerados los más importantes, junto con la salinidad, que es un factor destacado a tener en cuenta en los sistemas estuáricos [LIANG y WONG, 2003; GUEVARA-RIBA y col., 2005; DOONG y col., 2008].

El pH y el potencial redox rigen la movilidad de los metales en el medioambiente. En la **Figura I.2** se muestran las tendencias de solubilidad y movilidad de los metales pesados en ausencia de interacciones significativas con la materia orgánica. Se puede observar como la solubilidad y por tanto la movilidad se ve incrementada en las siguientes situaciones: primero a valores bajos de pH se produce la liberación de los metales desde la fase sólida; en

segundo lugar cuando se modifican las condiciones redox del medioambiente mediante un moderado aumento de los potenciales de reducción se observa también un ligero aumento en la solubilidad.

Por otro lado, los metales pesados habitualmente forman complejos tanto con ligandos de origen natural (ácidos húmicos o fúlvicos) como con agentes complejantes de origen antropogénico tales como EDTA o NTA. La complejación afecta a las propiedades de los metales como su actividad catalítica, su toxicidad y movilidad.



**FIGURA I.2.** Efecto del potencial y el pH en la solubilidad de los metales pesados [BRADL y col., 2005]

### I.2.1. DISTRIBUCIÓN BIOGEOQUÍMICA DE ALGUNOS METALES DE INTERÉS

En este apartado se describe el comportamiento y características biogeoquímicas de algunos metales de interés, que han sido estudiados en este trabajo.

#### I.2.1.1. ARSÉNICO

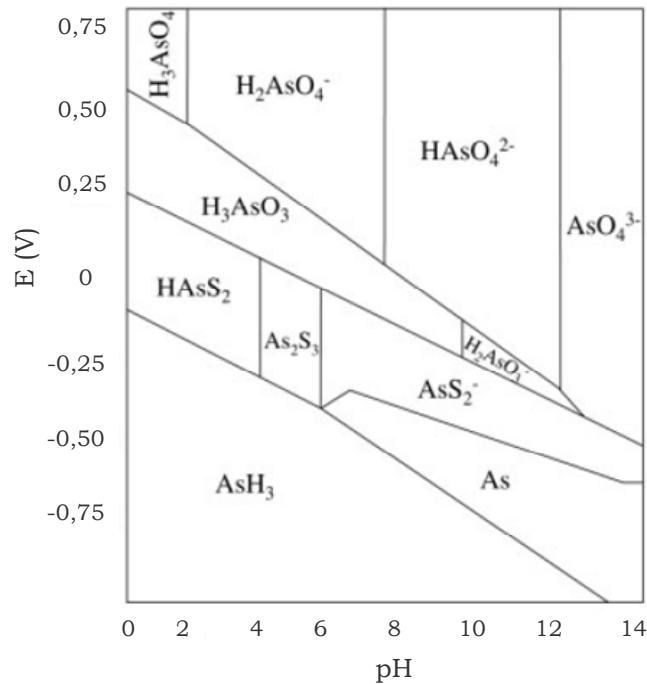
El arsénico es un metaloide, quebradizo, con estructura metálica cristalina, que presenta tres formas alotrópicas de colores amarillo, negro y gris. Perteneció al grupo V-A de la tabla periódica y se asemeja químicamente al fósforo [BRADL y col., 2005].

A pesar de su poca abundancia en la corteza de la tierra (0,0001%), ocupa el puesto 52 en el ranking de abundancia de los elementos, por delante del molibdeno. El arsénico se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza pudiendo encontrarse cantidades detectables tanto en suelos, como en aguas superficiales, aguas subterráneas y otros medios. Es un constituyente natural de los minerales de plomo, cinc, oro y cobre. Fenómenos naturales tales como la meteorización, la actividad biológica y la actividad volcánica junto con las aportaciones antropogénicas son las responsables de la emisión de arsénico a la atmósfera, desde donde se redistribuye a la superficie de la tierra mediante la lluvia [CULLEN y REIMER, 1989; BISSEN y FRIMMEL, 2003; OREMLAND y STOLZ, 2003].

Los estados de oxidación más comunes del arsénico son -III, 0, +III, +V. La especie predominante de arsénico inorgánico en los sistemas acuáticos aeróbicos es el arseniato (As(V) como  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  y  $\text{HAsO}_4^{2-}$ ), mientras que en ambientes reductores la forma predominante es el arsenito (As(III) como  $\text{H}_2\text{AsO}_3$  y  $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ).

En la **Figura I.3** se muestra el diagrama de E-pH para los compuestos inorgánicos de arsénico en el medio acuático [BISSEN y FRIMMEL, 2003]. En los medios aeróbicos el arsénico se encuentra en el estado de oxidación +V. El As(V) aparece como  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  a valores de pH por debajo de 2, para el rango de pH entre 2 y 11 el  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  se encuentra como  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  y  $\text{HAsO}_4^{2-}$ . A valores bajos de potencial el arsénico se encuentra en el estado de oxidación +III como

$\text{H}_3\text{AsO}_3$ , el cual no se disocia hasta valores de pH superiores a 9, por encima del cuál aparece como  $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{HAsO}_3^{2-}$  y  $\text{AsO}_3^{3-}$ . A valores de potencial inferiores a 250 mV en presencia de sulfuros o hidrógeno sulfuros se pueden formar compuestos como  $\text{As}_2\text{S}_3$ , los cuales no son solubles en condiciones ácidas o neutras. Por su parte, la arsina y el arsénico elemental solo se forman si se dan unas condiciones fuertemente reductoras.



**FIGURA I.3.** Diagrama de potencial-pH para el sistema A-O<sub>2</sub>-S-H<sub>2</sub>O [BISSEN y FRIMMEL, 2003].

La movilidad y biodisponibilidad del arsénico depende principalmente de la especie química de arsénico presente, del pH del suelo o las aguas subterráneas, de la presencia de óxidos de manganeso e hierro y arcillas, del potencial redox y la presencia de otros iones competidores. Las especies más abundantes de arsénico en suelos y aguas son el As(V) y el As (III). De estos el As(III) es el que presenta una mayor movilidad y solubilidad, además de ser la especie más tóxica [OREMLAND y STOLZ, 2003; BRADL y col., 2005].

#### I.2.1.2. CADMIO

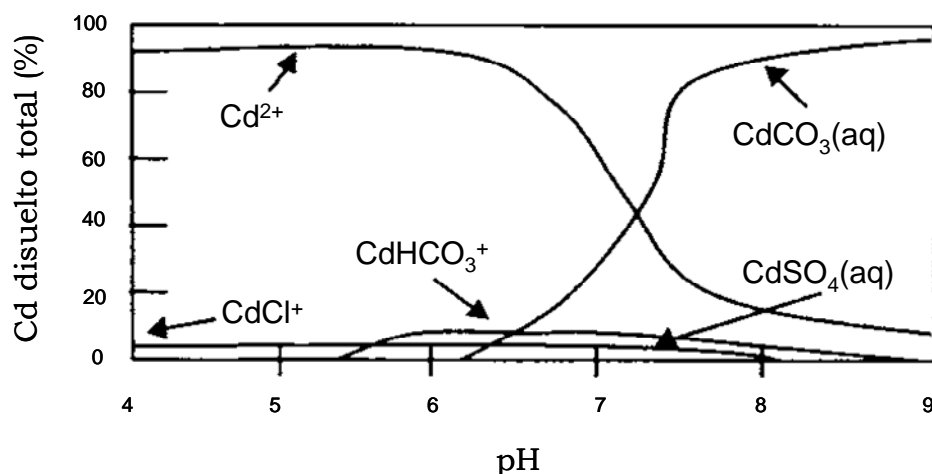
El cadmio es un elemento metálico de transición que pertenece al grupo II-B de la tabla periódica, su número atómico es 48 y su masa atómica relativa 112,44. El cadmio en su forma elemental es un metal blanco plateado, dúctil y maleable. Representa el  $1,5 \cdot 10^{-5}$  % en peso de la corteza terrestre, encontrándose ampliamente distribuido en la misma. No se encuentra en el medio ambiente como metal puro y la greenockita (sulfuro de cadmio), único mineral de cadmio, no es una fuente comercial de metal. Aparece con frecuencia en forma isomorfa en casi todos los yacimientos de cinc (que constituye el 95% de la producción de cadmio), y en los minerales de cobre y plomo, además de aparecer en la naturaleza formando compuestos con óxidos, sulfuros y carbonatos.

La actividad volcánica y la meteorización de las rocas son las principales causas naturales de emisión de cadmio a la atmósfera, junto con las emisiones producidas en los incendios forestales. Antropogénicamente el cadmio se produce fundamentalmente como un subproducto de la minería, fundición y refinación de minerales de cinc, y en menor medida, plomo y cobre [HUTTON, 1987].

El cadmio se encuentra muy asociado con el cinc en su geoquímica ya que ambos elementos tienen estructuras iónicas y electronegatividades similares, ambos presentan estructuras divalentes en todos sus compuestos estables, y ambos forman hidróxidos y complejos con iones de amonio y cianuro, así como una variedad de complejos orgánicos con aminas, sulfuros complejos, clorocomplejos y quelatos. El cadmio forma precipitado con carbonatos, arseniatos, fosfatos, oxalatos y ferrocianuros.

La movilidad y biodisponibilidad del cadmio depende principalmente de su especie química. El cadmio y los compuestos de cadmio son, en comparación con otros metales pesados, relativamente solubles en agua. Son también, en general, más biodisponibles y móviles. La distribución del cadmio en los ecosistemas acuáticos se puede predecir en base a la generalización de la composición en aguas de río (**Figura I.4**) [BRADL y col., 2005]. En aguas con un pH inferior a 6 todo el cadmio disuelto aparece como ión libre, para un pH entre 6 y 8,2 predominan las especies carbonato, como  $\text{CdHCO}_3^+$  y  $\text{CdCO}_3$ , y en sistemas con un pH entre 8,2 y 10 aparece como carbonato sin carga. La

complejación de cadmio con la materia orgánica es relativamente poca debido a la competición de otros metales como el calcio por los lugares de unión, siendo la adsorción el principal proceso de reacción con la materia en suspensión. En general, la movilidad y biodisponibilidad de cadmio en los ecosistemas acuáticos se ve favorecida por los pH bajos, bajos niveles de dureza, bajos niveles de materia en suspensión, alto potencial redox y baja salinidad.



**FIGURA I.4.** Distribución calculada de las especies acuáticas de cadmio en función del pH basado en la composición media de las aguas de ríos [BRADL y col., 2005].

#### I.2.1.3. COBRE

El cobre es un metal de transición que pertenece al grupo I-B de la tabla periódica. Es un metal maleable, dúctil con una muy buena conductividad al calor y la electricidad [BRADL y col., 2005]. Presenta tres estados de oxidación 0, +I, +II. Es un elemento relativamente abundante en la corteza terrestre y moderadamente soluble, ocupando el puesto 26 en el ranking de abundancia en la corteza de la tierra detrás del Zn con una concentración media de 24 a 55 ppm.

En el estado de oxidación +II el cobre es isomorfo con los iones  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ . El cobre aparece en una gran variedad de formas: sulfuros, sulfatos, carbonatos, y también como cobre elemental. La calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) es el mineral más abundante de cobre, el cual contiene un 34% de cobre.



La forma química adoptada por el metal (iónica, complejo, precipitado), y por tanto, su movilidad y disponibilidad, depende de factores ambientales como el pH, el potencial redox, el tipo de suelo y sedimento, la dureza del agua y el contenido orgánico. Estos factores pueden variar de un medio a otro, dando lugar a condiciones de deficiencia de cobre o de toxicidad.

La mayoría de sales cúpricas se disuelven en agua liberando el ión libre hidratado. El  $\text{Cu}^{2+}$  es un ión que fácilmente forma complejos y en su forma libre catiónica presenta una gran tendencia hacia la hidrólisis. En el medio ambiente el cobre está distribuido en las tres fases: acuosa (como ión libre o complejos solubles), sólida (en partículas, coloides, suelos y sedimentos) y biológica (adsorbido e incorporado) [FLEMMING y TREVORS, 1989].

Existen fundamentalmente tres procesos que controlan los niveles de cobre en disolución, su transformación en las distintas formas químicas, su movilidad en los ecosistemas acuáticos y su disponibilidad para la biota, que son: 1) complejación, 2) precipitación y 3) adsorción. Estos procesos, así como la resultante especiación, reparto y biodisponibilidad del cobre, están gobernados por la química del Cu (II).

Los principales ligandos inorgánicos que forman complejos con el cobre en las aguas naturales son los iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) y carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), dependiendo del pH y la dureza del agua. Otros ligandos inorgánicos importantes capaces de formar complejos inorgánicos con cobre en algunas aguas naturales son  $\text{HS}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$ , y  $\text{NH}_3$ . El papel de estos ligandos, a excepción del  $\text{Cl}^-$ , es menor en agua de mar que en las aguas naturales debido a las bajas concentraciones que presentan.

Tanto en agua de mar como en aguas naturales los ligandos orgánicos juegan un papel más importante que los ligandos inorgánicos en la química y formación de complejos de Cu disuelto. En la bibliografía se ha descrito un alto grado de complejación orgánica del Cu disuelto en las aguas de ríos (del 75 al 99% del Cu disuelto total) y también se ha observado una relación proporcional directa entre la capacidad de complejación y el contenido de carbono orgánico disuelto (COD) [FLEMMING y TREVORS, 1989]. En aguas con un alto contenido biológico existen una gran variedad de ligandos orgánicos entre los que se incluyen los productos de excreción nitrogenados

de los organismos superiores como aminoácidos, polifenoles y metabolitos microbianos de bajo peso molecular; exopolisacáridos de origen microbiano; así como ácidos húmicos heteropoliméricos y fúlvicos procedentes de la descomposición vegetal. Estos ligandos, junto con la materia orgánica producida en la digestión anaeróbica de los lodos de las aguas residuales reducen la toxicidad de Cu y otros metales en los ecosistemas acuáticos.

Los principales precipitados de Cu que se forman en las aguas naturales incluyen  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ,  $\text{CuO}$ ,  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2(\text{CO}_3)$  y  $\text{Cu}_3(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_2$ . Los fosfatos también forman precipitados con cobre. Los carbonatos y sulfuros presentes en los sedimentos contribuyen a la retención y acumulación de cobre.

La adsorción de cobre y su reparto entre los sedimentos y el compartimento acuático depende de las características adsorbentes del sedimento, las características metálicas y algunos parámetros medioambientales. Los factores que afectan a los procesos de adsorción/desorción de cobre en los medios naturales incluyen el pH, la concentración de Cu y de adsorbentes, el tipo de ligando y su concentración, y los cationes competidores. En general, la adsorción de cobre por las arcillas y la materia orgánica es función directa del pH, con una adsorción máxima para un pH de 7,0.

#### I.2.1.4. PLOMO

El plomo representa aproximadamente el 0,002% de la corteza de la tierra y es el elemento más abundante entre los metales pesados con número atómico mayor que 60. Aunque hay más de 200 minerales de plomo, sus minerales más importantes son la galena ( $\text{PbS}$ ), la cerusita ( $\text{PbCO}_3$ ), la crocoita ( $\text{PbCrO}_4$ ) y la piromorfita ( $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ ). Pertenece al grupo IV-A de la tabla periódica y presenta dos estados de oxidación +II y +IV. En la mayoría de sus compuestos inorgánicos el plomo tiene estado de oxidación +II; de éstos, las sales de bromuro y cloruro son ligeramente solubles en agua mientras que las sales de carbonato y las sales básicas son completamente insolubles.

Las principales causas naturales de movilización de plomo desde la corteza terrestre la constituyen las erupciones volcánicas y la meteorización de las rocas.

Los compuestos insolubles de plomo se hunden y se adsorben en los sedimentos o bien se adhieren en las partículas en suspensión (especialmente partículas de arcilla), funcionando éstas como secuestrante de compuestos de plomo.

El comportamiento del plomo en los suelos y los sedimentos está controlado por tres factores: en primer lugar su adsorción específica con varias fases sólidas, la precipitación de compuestos de plomo que presentan una elevada estabilidad, y en tercer lugar la formación de complejos o quelatos muy estables con la materia orgánica de los suelos y sedimentos. El plomo presenta una elevada adsorción por los óxidos de manganeso y de hierro, más fuerte que cualquier otro metal, siendo mayor para los óxidos de manganeso [JAWORSKI, 1987; BRADL y col., 2005].

#### I.2.1.5. CINC

El cinc es un elemento que está ampliamente distribuido en el medioambiente, ocupa el puesto número 24 entre los elementos más abundantes de la corteza terrestre y su contenido en la litosfera está en torno a 70 mg Kg<sup>-1</sup>. Se conocen cincuenta y cinco minerales que contengan cinc, siendo los más importantes la esfalerita (ZnS), esmithsonita (ZnCO<sub>3</sub>) y la cincita (ZnO).

El cinc metálico no se encuentra libre en la naturaleza, encontrándose en su estado de oxidación +II. El ión Zn<sup>2+</sup> es incoloro y existe en forma hidratada en soluciones acuosas neutras y ácidas; sin embargo en solución alcalina precipita el hidróxido, pero en exceso de base de dicho hidróxido se redissuelve para formar el ión cincato, Zn(OH)<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Debido a su naturaleza anfótera, el cinc forma gran variedad de sales; los cloratos, cloruros, sulfatos y nitratos son solubles en agua mientras que los óxidos, carbonatos, fosfatos, silicatos y sulfuros son relativamente insolubles en agua.

El cinc puede ser considerado, junto con el cadmio, como un metal muy biodisponible. Entre los factores que afectan a la movilidad y biodisponibilidad del cinc se encuentran el pH, el contenido de materia orgánica, el contenido de minerales de arcilla y el potencial redox. La

movilidad del cinc decrece con el aumento de los valores de pH [BRADL y col., 2005; EPA, july 2005].

### ***I.3. ESPECIACIÓN DE METALES PESADOS EN ECOSISTEMAS ACUÁTICOS***

---

En la actualidad se acepta de forma generalizada que la distribución, movilidad, disponibilidad biológica y toxicidad de los elementos químicos no es función de la concentración total de los mismos, sino que dependen de la forma química en la que se encuentren. Es necesario conocer las especies químicas de los elementos para comprender las reacciones químicas y bioquímicas en las que intervienen, y por tanto, obtener información relativa al carácter esencial y tóxico de los elementos químicos. Los elementos, generalmente en función de su estado de oxidación y del medio, forman parte de distintas moléculas, por lo que los análisis de especiación se convertirán en una herramienta esencial para la evaluación de riesgos en el medioambiente, permitiendo que se realicen diagnósticos y controles de los elementos trazas más efectivos. En última instancia, este tipo de investigación puede dar lugar a una legislación ambiental basada en la concentración máxima permisible de especies químicas, en vez de una legislación basada en concentraciones totales de los elementos [FRIMMEL y GREMM, 1994; TACK y VERLOO, 1995; MICHALKE, 2003; SIGG y col., 2006].

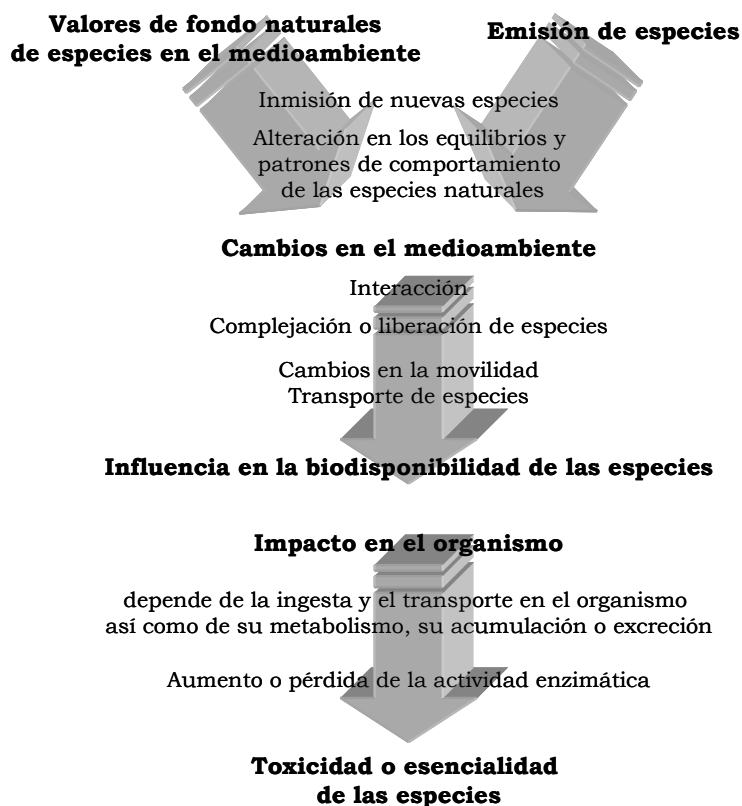
El termino “*especie química*” ha sido definido por la IUPAC en sus recomendaciones del año 2000 [TEMPLETON y col., 2000]. En estas recomendaciones se describe la “*especie química*” como la forma específica de un elemento definida como su composición isotópica, su estado electrónico o de oxidación y/o su estructura compleja o molecular. En consecuencia, la “*especiación de un elemento*” se define como la distribución de un elemento entre especies químicas definidas en un sistema. Para determinar la especiación, se define el “análisis de especiación” como la actividad analítica de identificación y/o medida de las cantidades de una o más especies químicas individuales en una muestra [CARUSO y col., 2003; HIROSE, 2006]. La definición de *especie* se basa en los diferentes niveles estructurales tanto atómicos como moleculares en los que las diferentes formas químicas de un

mismo elemento se manifiestan. En este sentido, se pueden considerar diferencias a los niveles de: 1) la composición isotópica, 2) el estado de oxidación, 3) los compuestos inorgánicos y orgánicos y sus complejos, 4) las especies organometálicas, y 5) los compuestos y complejos macromoleculares. Algunos de estos niveles estructurales son más importantes para la evaluación del riesgo que otros. Así, la composición de los isótopos estables de un elemento es importante tanto desde el punto de vista teórico como desde el punto de vista físico y en química ambiental, aunque en general, su importancia para la evaluación del riesgo sobre la salud humana es mínima. Así mismo, la especiación elemental a nivel macromolecular posee una gran importancia biológica, fisiológica, bioquímica y sobre la nutrición, pero su importancia sobre la toxicidad ambiental es menor. Por otra parte, el estado de valencia de los elementos así como la especiación organometálica inorgánica y covalente son de gran importancia para la determinación de la toxicidad de los metales y semi-metales, de gran importancia en la alimentación y en las áreas clínicas y biológicas [GONZALVEZ y col., 2009]. Los procedimientos analíticos que no conducen a la identificación de especies químicas pero permiten caracterizaciones de grupos de especies no se consideran que sean propiamente dicho “análisis de especiación”. Para estos casos la IUPAC en sus recomendaciones emplea el término “fraccionamiento”, que se define como el proceso de clasificación de un analito o un grupo de analitos de una cierta muestra de acuerdo a sus propiedades físicas (por ejemplo: tamaño o solubilidad) o químicas (por ejemplo: reactividad o tipo de enlace). El término *fraccionamiento* coincide con dos de los enfoques principales dados a la especiación en la literatura, que son conocidas como especiación operacional y especiación funcional. En ambos casos se hace una caracterización de diferentes grupos de compuestos en función de la operación analítica realizada (operacional) o bien que la caracterización de los grupos se realice en función de su papel en las rutas bioquímicas (funcional) [HILL, 1997; MICHALKE, 1999; DAVIDSON y col., 1999; CARUSO y col., 2003]. Existen autores que consideran que la definición de *especiación* recomendada por la IUPAC es apropiada para especiación en muestras líquidas, pero relega a la mayoría de los estudios realizados en sólidos, sedimentos y materiales, tanto geoquímicos como biológicos, del campo de la especiación a la categoría de metodología de fraccionamiento [URE y DAVIDSON, 2002].

Las dos principales áreas de aplicación de los análisis de especiación son la especiación medioambiental y la especiación biológica/médica, en el

primer caso se evalúa el riesgo medioambiental mediante la determinación de especies potencialmente peligrosas, y en el segundo caso se esclarecen los mecanismos de biotransformación de las especies inorgánicas y los iones metálicos inorgánicos [SZPUNAR y LOBINSKI, 1999; KOT y NAMIESNIK, 2000]. En ambos casos las especies que se estudian y los problemas analíticos que hay que resolver son muy similares, siendo por tanto una distinción en la aplicación más que en el tipo de especiación.

La naturaleza y cantidad de las especies de origen antropogénico emitidas al medioambiente influyen en sus concentraciones naturales y por tanto en sus equilibrios. Esto conlleva una alteración en la movilidad y biodisponibilidad de las mismas, que se relaciona directamente con los mecanismos bioquímicos de incorporación a los organismos. En consecuencia, también se ven afectados el comportamiento y posterior destino de las especies en los organismos, es decir, la adsorción de las especies por las membranas celulares, su transporte e incorporación a las estructuras o enzimas, así como su enriquecimiento y excreción del organismo. Por lo tanto, existe una relación directa entre las modificaciones en las concentraciones de las especies en el medioambiente y los cambios que se pueden producir en su impacto biológico, que pueden ser en forma de toxicidad, deficiencia o incluso en el crecimiento de los sistemas biológicos. En la **Figura 1.5** se muestran gráficamente las principales vías en las que la alteración en la composición de las especies en el medioambiente provoca cambios en las especies bioquímicas y médicas [MICHALKE, 2003].



**FIGURA I.5.** Relación entre la especiación medioambiental y la especiación médica o bioquímica [MICHALKE, 2003].

### I.3.1. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN METÁLICA

La especiación de metales en muestras medioambientales es un problema analítico difícil, debido a [PICKERING, 2002]:

- (1) las dificultades asociadas a la separación o aislamiento de la especie de interés de las matrices naturales que presentan una elevada complejidad.
- (2) la mayoría de las técnicas de especiación disponibles provocan cambios en los equilibrios existentes entre las distintas formas químicas presentes en el sistema de estudio.

(3) a menudo no se dispone de muestras de referencias adecuadas para la validación de los análisis de especiación.

(4) las bajas concentraciones que presentan las especies en la mayoría de las muestras requiere una alta sensibilidad y selectividad para su determinación que pocos procedimientos analíticos poseen.

Aún así, se han realizado importantes avances en el campo de los análisis de especiación durante los últimos 20 años, de modo que actualmente es posible realizar análisis de especiación para casi cualquier elemento, aunque no para todas las especies de cada elemento [APOSTOLI y col., 2006].

Teniendo en cuenta las consideraciones realizadas hasta el momento, el procedimiento que se seleccione para este tipo de análisis debería ser capaz de distinguir entre formas químicas diferentes de un mismo metal y entre formas químicas análogas de metales distintos, algunas o todas en concentraciones muy bajas. Habría, por tanto, que disponer de métodos analíticos válidos al nivel de trazas o subtrazas y específicos para cada especie. Sin embargo, no siempre se dispone de las técnicas adecuadas con tan elevada sensibilidad. Por ello, se suelen separar primero en una o varias etapas las distintas especies, para seleccionar luego una técnica lo bastante sensible como para permitir determinar cada una de ellas a distintos tiempos o en las diferentes porciones en las que han sido separadas. De este modo se distinguen entre los métodos de especiación directa y las técnicas combinadas.

#### I.3.1.1. MÉTODOS DE ESPECIACIÓN DIRECTA

Este grupo de técnicas incluye aquellas que proporcionan información completa sobre las especies de un elemento en una muestra dada sin necesidad de un proceso de separación. Sin embargo, pocas técnicas instrumentales poseen la sensibilidad y selectividad suficientes para llevar a cabo con éxito análisis de especiación en muestras medioambientales de manera directa, siendo capaces de diferenciar entre las distintas formas químicas de un elemento. A continuación se mencionan los métodos más destacados:

a) La *determinación de la composición isotópica de un elemento* que posee múltiples isótopos también puede calificarse como análisis de especiación. La



composición isotópica de un elemento puede variar de forma natural debido a la radioactividad o al fraccionamiento cinético de las masas. La instrumentación para el análisis de los isótopos radioactivos requiere el uso de contadores de radiación beta, gamma o de centelleo. Para el análisis de los isótopos estables se emplean técnicas de espectrometría de masas, siendo entre todas ellas el ICP-Masas la técnica preferida en la mayoría de los estudios [CARUSO y col., 2003].

b) Los *métodos electroquímicos* se basan en la medida de señales eléctricas asociadas con las propiedades moleculares o los procesos interfases de las especies químicas. Debido a la transformación directa de la información química deseada (concentración, actividad) en una señal eléctrica (potencial, intensidad de corriente, resistencia,...) que se realiza por estos métodos, hace que sean sencillos y baratos. Las dos dificultades principales para la aplicación de las técnicas electroquímicas a muestras reales y complejas son su baja selectividad y las posibles interferencias de materiales presentes en la muestra. Existen diferentes técnicas electroquímicas que se diferencian en el modo de excitación y la señal respuesta obtenida. Estos métodos se han aplicado para la cuantificación de distintos estados de oxidación de un elemento ( $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ ,  $\text{Cr}^{\text{VI}}/\text{Cr}^{\text{III}}$ ,  $\text{Tl}^{\text{III}}/\text{Tl}^{\text{I}}$ ,  $\text{Sn}^{\text{IV}}/\text{Sn}^{\text{II}}$ ,  $\text{Mn}^{\text{VI}}/\text{Mn}^{\text{II}}$ ,  $\text{Sb}^{\text{V}}/\text{Sb}^{\text{III}}$ ,  $\text{As}^{\text{V}}/\text{As}^{\text{III}}$  y  $\text{Se}^{\text{VI}}/\text{Se}^{\text{IV}}$ ), así como de sus especies organometálicas o de sus complejos metálicos en equilibrio [APOSTOLI y col., 2006; CORNELIS y NORDBERG, 2007].

La *potenciometría directa con electrodos selectivos*, en principio, resulta muy adecuada para análisis de especiación por su respuesta selectiva en condiciones adecuadas a los iones libres en disolución acuosa. Existen diferentes tipos de electrodos selectivos comerciales, que difieren entre sí respecto a sus rangos de trabajo, límites de detección, grados de error y posibles efectos interferentes. Estos electrodos selectivos pueden responder a la presencia de cationes (ej.:  $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ) y de aniones (ej.:  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ). Además existen electrodos selectivos para gases (ej.:  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_2$ ), electrodos bioselectivos (basados en reacciones substrato-enzima) y electrodos biocatalíticos (en los que una capa de enzima o biocatalizador se inmoviliza en una superficie de un electrodo de vidrio selectivo para cationes a través de una membrana semipermeable). El límite de detección de la mayoría de los electrodos comerciales disponibles está dentro del rango de  $10^{-6}$ - $10^{-7}$  mol  $\text{L}^{-1}$  [DE MARCO

y col. 1987; PICKERING, 2002], lo que limita su aplicación en el análisis de trazas.

También se pueden aplicar otros métodos electroquímicos, como la *polarografía diferencial de impulsos*, la cual es capaz de originar señales separadas para iones metálicos libres y las correspondientes formas metálicas complejas. De igual modo, la polarografía puede diferenciar entre estados de oxidación, por ejemplo Fe (III) y Fe (II), en virtud de sus respectivas ondas de reducción y oxidación con el mismo potencial de semionda [BAYER y col., 1975].

Quizás el procedimiento electroquímico más usado en los análisis de especiación sea la *voltamperometría de redisolución anódica (ASV)*, sobre todo en el caso de los metales pesados tóxicos, y que, a niveles de trazas, puede determinar alrededor de 15 elementos, tanto su concentración total como especies lábiles complejadas, aunque éstas últimas en condiciones muy críticas [SANCHEZ, 1994]. Además, la técnica ASV no perturba la distribución de especies por lo que, al menos en teoría, puede identificar y cuantificar cada una de las especies en función de su potencial de reducción. La alta sensibilidad de esta técnica permite la detección de un número limitado de elementos traza a niveles de concentración frecuentes en la naturaleza (ej.: en agua de mar muchas especies de interés aparecen a concentraciones de  $10^{-9}$  mol L<sup>-1</sup>). Esta técnica es especialmente útil para el control de elementos con un interés medioambiental, como por ejemplo Cu, Pb, Cd ó Zn. En la práctica, se pueden definir categorías de especies que se determinan después de un pretratamiento sencillo de la muestra. Hay que tener en cuenta que la adición de ácidos fuertes y la digestión de la muestra transforman las especies químicas, por lo que en estos casos solo se puede determinar la concentración total del metal [BUFFLE y TERCIER-WAEBER, 2005].

c) Las técnicas de *Espectrofotometría y Espectrofluorometría* tienen la ventaja de ser baratas y de fácil manejo. Sin embargo, solo en algunos casos permiten la determinación directa de formas específicas de un elemento (especiación redox), usándose la mayoría de las veces acopladas con alguna técnica de separación previa, tales como intercambio iónico, extracción con disolventes, etc.

Las especies coloreadas oxianiónicas de manganeso y cromo pueden ser determinadas espectrofotométricamente, sin la necesidad de emplear ningún reactivo [PÉREZ-BENDITO y RUBIO, 1999; TOWN y FILELLA, 2000]. Sin embargo, es habitual que se necesite el uso de un reactivo que forme un complejo específico coloreado (reactivos cromogénicos que reaccionan con el ion metálico libre, pero también con otras especies complejas del metal, en las que pueda desplazar el ligando natural por competición con el ligando añadido) [SANCHEZ, 1994]. Este sistema se ha empleado para determinar la presencia de iones Cu(I) en agua de mar, procedente del Golfo de Méjico y del Océano Atlántico [MOFFETT y ZIKA, 1988]. Por otro lado, la fluorescencia se ha empleado, entre otras investigaciones, en estudios cinéticos de complejación de iones metálicos por ligandos coloidales, tanto en aguas como en suelos.

Las técnicas que utilizan la *difracción o absorción de rayos X* (EXAFS (Extend X-Ray Absorption Fine Structure), XANES (X-Ray Absorption Near Edge Spectroscopy) o XRD (X-Ray Diffraction)) permiten también la caracterización química en muestras sólidas de ciertos compuestos metálicos (ej.: de Zn, Hg, Pb). Mientras que algunas de estas técnicas proporcionan una alta resolución espacial para muestras sólidas, debido a su baja sensibilidad la cuantificación directa de ciertas especies puede resultar muy difícil sin una separación previa de las especies de interés [CARUSO y col., 2003].

Otras técnicas espectroscópicas que pueden emplearse en la especiación directa son la *Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear* (RMN), la *Espectroscopía Mossbauer*, la *Espectroscopía de Infrarrojo IR* y la *Espectroscopía de Resonancia de Espín Electrónico* (ESR). La principal desventaja de estas técnicas es la baja sensibilidad o poca especificidad que presentan, siendo necesario la separación de los compuestos. De entre estas técnicas, la espectroscopía de RMN es especialmente útil para determinar las constantes de formación de los ligandos complejos metálicos [CARUSO y col., 2003].

#### I.3.1.2. MÉTODOS DE ESPECIACIÓN COMBINADOS O HÍBRIDOS

Estos métodos constituyen la herramienta más común para la especiación de los elementos trazas. En ellos se combinan al menos dos técnicas analíticas, la primera es una técnica de separación que se emplea

para separar las especies químicas que van a ser cuantificadas por la segunda técnica analítica, que suele poseer una elevada sensibilidad. Entre las desventajas de los sistemas combinados o híbridos se incluye el incremento de la complejidad y por tanto un mayor riesgo de que se produzcan cambios en el sistema. Así pueden darse alteraciones de los equilibrios entre las especies durante la separación debido a procesos como la dilución o la separación de las especies que forman parte de un equilibrio químico, provocándose en último momento la transformación o incluso la destrucción de las especies químicas. En sus inicios la especiación se realizaba en discontinuo, es decir primero se realizaba la etapa de separación seguida de la etapa de detección. En la actualidad está más extendido el uso de las técnicas acopladas, en las cuales la técnica de separación y la técnica analítica de detección están conectadas por medio de una interfase. La amplia utilización de las técnicas acopladas se debe principalmente al alto grado de automatización que ofrecen, además de una buena reproducibilidad y rapidez. Mediante el empleo de técnicas de separación específicas y rápidas, como pueden ser, la cromatografía líquida rápida de proteínas, la electroforesis capilar y la cromatografía gaseosa multicapilar, se reduce el tiempo del análisis y por tanto las posibles transformaciones de las especies durante el mismo [GREENWAY, 2002; MICHALKE, 2003; GONZALVEZ y col., 2009].

Entre las técnicas no acopladas más utilizadas destacan la Espectroscopía de Absorción Atómica (AAS), la Espectroscopía de Emisión con Plasma (ICP, MIP ó DCP-AES) y la Fluorescencia Atómica (AFS). Estas técnicas se usan previa separación de las especies químicas, empleando para ello procesos físico-químicos, que permiten obtener secuencialmente fracciones de las especies a determinar sin alterar el estado natural de éstas.

Las técnicas de Espectroscopía Atómica son realmente muy sensibles y para que sean útiles en el campo de la especiación deben hibridarse adecuadamente con técnicas de separación, como las cromatografías de gases (GC) o de líquidos (HPLC). En ellas, la falta de especificidad de los detectores cromatográficos habituales se sustituye por la alta especificidad y sensibilidad de los detectores atómicos en este tipo de acoplamientos. Las principales técnicas de separación empleadas en los estudios de especiación son las técnicas cromatográficas y las técnicas de separación electroforéticas [GREENWAY, 2002; APOSTOLI y col., 2006; CORNELIS y NORDBERG, 2007].

En las técnicas cromatográficas existen una fase estacionaria y una fase móvil, entre las que se separan las especies del analito dependiendo de su afinidad por cada una de ellas. El proceso involucrado en la separación puede ser la partición, adsorción, intercambio iónico y la exclusión por tamaño. La fase estacionaria en todos los casos está empaquetada en una columna o cubriendo las paredes de una columna (columna capilar). En función de la volatilidad y estabilidad de las especies que se van a separar existen tres tipos de fase móvil: gas, líquido o fluido supercrítico. La cromatografía de gases (GC) proporciona una mayor separación, especialmente si se usan columnas capilares, pero las muestras han de ser volátiles y estables. La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se emplea habitualmente para los compuestos no volátiles y por su parte, la cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) es especialmente útil para compuestos volátiles que se degradan con la temperatura.

Se pueden usar las técnicas de separación cuantitativas como HPLC y GC para el análisis directo de algunas especies metálicas [SARZANINI y MENTASTI, 1997]. Sin embargo, la principal limitación del HPLC y GC es precisamente el sistema de detección, al ser los detectores más comunes (conductimétrico, refractométrico, espectrofotométrico UV-visible, etc.) poco específicos [SANCHEZ, 1994].

El acoplamiento de las técnicas cromatográficas de gases o de líquidos con las técnicas espectroscópicas atómicas ha tenido un amplio desarrollo en el campo de la especiación metálica durante las décadas de los ochenta y noventa [VAN LOON, 1981; SUN, 1982; EBDON y col., 1986; EBDON y col., 1987; EBDON y HILL, 1988; QUEAVAUILLER, 1996; CHEN y col., 1998; DE LA GUARDIA y CERVERA, 1999; DE CAMPOS y GRINBERG, 2001]. Por lo general, la cromatografía líquida de alta resolución es una técnica adecuada para llevar a cabo estudios de especiación, habiéndose desarrollado métodos para la separación de muchas especies inorgánicas (catiónicas, aniónicas y complejas), pero sobre todo los relativos a especies organometálicas no volátiles. Los compuestos organometálicos volátiles pueden ser medidos directamente por GC con tal de que sean térmicamente estables, no obstante, se alcanza mayor sensibilidad y selectividad cuando se usa acoplado con Espectroscopía Atómica. El acoplamiento de las técnicas cromatográficas (GC y HPLC) con detectores específicos, como los basados en cualquier método de Espectroscopía Atómica (Absorción Atómica con llama (FAAS), Absorción

Atómica con horno de grafito (GF-AAS), Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma (ICP-AES, MIP-AES, DCP-AES) o la hibridación Plasma de Acoplamiento Inductivo-Espectrometría de Masas (ICP-MS), es, actualmente, una potentísima herramienta para llevar a cabo este tipo de estudios [GUÉGUEN y col., 2004].

Las técnicas de separación electroforéticas, basadas en la migración de iones dentro de un campo eléctrico, también son usadas es especiación metálica. La electroforesis capilar (CE) es un tipo de electroforesis de desarrollo reciente que utiliza el mismo tipo de capilares finos que se utilizan en la cromatografía de gases; el uso de estos capilares resuelve el problema de calentamiento ya que los flujos de corrientes son menores y el calor se disipa más fácilmente. En la electroforesis capilar ocurre además un proceso de separación adicional debido al flujo electro-osmótico. La pared interna del capilar está cargada negativamente como consecuencia de la presencia de grupos silanol y atrae a los iones positivos hasta formar una doble capa eléctrica, siendo la capa interna fija y la externa móvil. En el momento que se aplica un campo eléctrico, los cationes de la capa exterior serán atraídos hacia el cátodo; como los cationes se encuentran solvatados arrastran al resto de la disolución con ellos, a lo largo del capilar (flujo electro-osmótico) [GREENWAY, 2002].

La electroforesis capilar (CE) se puede usar como técnica de separación primaria o secundaria (ej.: después de HPLC) en cuyo caso se clasifica como técnica bi-dimensional. Teniendo en cuenta la poca capacidad de carga de la CE, la técnica bi-dimensional aumenta el rendimiento de los resultados, llevando la alta resolución de la CE a su máximo potencial. Estos sistemas a menudo están acoplados con detectores de UV, lo que permite la obtención de la información molecular pero también se pueden acoplar con ICP-MS o ES-MS (Electrospray Espectrometría de Masas) para obtener la información a nivel elemental o molecular. Existen diferentes modos de separación para la electroforesis capilar: la electroforesis capilar de zona (CZE) con una separación basada en la relación carga/masa de las especies, isoelectroenfoque capilar (CIEF) basada en el punto isoeléctrico, isotacoforesis capilar (CITP) basado en la conductividad del analito y cromatografía capilar electrocinética micelar (MEKC) basado en el carácter hidrófobo del analito. La técnica de electroforesis capilar ofrece una alta resolución así como una alta velocidad y se puede adaptar fácilmente para realizar análisis cuantitativo de

forma automática. Gracias a ello, ha sido aplicada de manera satisfactoria a los análisis de especiación de muchos compuestos, entre otros  $\text{Cr}^{\text{III}}/\text{Cr}^{\text{VI}}$ , compuestos de selenio y arsénico, selenio en la leche humana y metalotioninas de Cu, Cd y Zn [APOSTOLI y col., 2006; CORNELIS y NORDBERG, 2007].

#### I.3.1.3. ESPECIACIÓN BASADA EN MODELOS MATEMÁTICOS

Debido a los errores que pueden darse en los análisis de especiación asociados a la toma de muestra, su preparación así como las limitaciones de muchos de los procedimientos experimentales utilizados, muchos investigadores prefieren calcular teóricamente los patrones de distribución de la mayoría de las especies. Esta especiación basada en métodos de cálculo constituye la tercera clase en la que se pueden clasificar los métodos de especiación.

Esta aproximación al problema de la especiación lleva consigo la resolución de múltiples ecuaciones simultáneas, de las cuales algunas describen los equilibrios químicos competidores y otras definen las relaciones en el balance de masas. Entre los datos de entrada requeridos para realizar los cálculos se encuentran los niveles totales de cationes, aniones y especies ligando presentes, así como los valores de las constantes de equilibrio para todas las posibles interacciones entre las especies. Al mismo tiempo, es necesario realizar asunciones en relación al número de especies presentes y los mejores valores para varias de las constantes de equilibrio seleccionadas de entre los rangos que hayan sido descritos en la literatura científica.

La construcción de la mayoría de los modelos de especiación para ecosistemas acuáticos se basa en la asunción de equilibrios termodinámicos entre las especies químicas en disolución y las especies en la fase sólida, por lo que es necesario describir las ecuaciones que se utilizan para cuantificar estas reacciones químicas. Además se ha de tener en cuenta los fenómenos de adsorción, los metales pueden llegar a tener una gran afinidad por la materia húmica o los coloides inorgánicos en disolución, afectando tanto a la retención como a la movilidad y por tanto a su importancia medioambiental. Así mismo se han de tener en cuenta las reacciones redox en las que pueden estar involucradas las especies.

Estas decisiones preliminares son importantes, pues pueden dar lugar a importantes discrepancias aparentes con los valores descritos para cada una de las especies presentes en una matriz común (ej.: agua de mar). Además se pueden producir variaciones cuando se intentan asociar las especies con la fracción orgánica, coloides o la materia particulada, ya que los datos para estas constantes de equilibrio no suelen estar disponibles [FLORENCE, 1982; WAITE, 1989; PICKERING, 2002;].

El uso de modelos matemáticos aplicados al estudio de especiación no es algo nuevo, ya en los años 60 se desarrollaron modelos aplicados al agua de mar; estos modelos han ido progresando y los avances realizados en el campo de la informática han logrado que estas técnicas sean asequibles. Recientemente, debido a la proliferación de modelos computerizados para ordenadores, ha aumentado la disponibilidad de éstos y su uso se ha extendido para multitud de aplicaciones. En la **Tabla I.4** se describen algunos de estos modelos.

La modelización matemática de las reacciones de especiación permite a si mismo obtener conocimientos relacionados con los procesos de toxicidad y biodisponibilidad de los metales. Una vez identificadas las especies metálicas que pueden interaccionar con la biota, estas estimaciones pueden utilizarse para evaluar la biodisponibilidad y toxicidad. Dos de los modelos más empleados en este sentido son el modelo de la actividad iónica libre (FIAM) y el modelo del ligando biótico (BLM). El FIAM correlaciona la toxicidad de los metales con su concentración en su forma iónica libre, sin embargo este modelo no explica los efectos mitigantes de la toxicidad producidos por altas concentraciones de calcio (dureza) y materia orgánica. El BLM se basa en la hipótesis de que la toxicidad no está solamente relacionada con la concentración del metal en forma iónica libre, sino que es necesario considerar tanto la complejación metal-ligando biótico como la interacción del metal con los cationes que compiten por el sitio de acción de toxicidad, como por ejemplo el calcio; además se incorpora el efecto protector de la materia orgánica como ligando que disminuye la actividad de los iones libres del metal.



**TABLA I.4.** Descripción de algunos modelos matemáticos de especiación química.

| MODELO        | DESCRIPCIÓN   | ORIGEN  |
|---------------|---|---|
| CHES          | Modelo de especiación para la simulación de distribuciones en equilibrio en sistemas acuosos complejos. Aplicable a campos tan diversos como química de las aguas naturales o industriales, hidrología, bioquímica, ciencias ambientales, química nuclear, corrosión, radio-toxicología, etc  | École Nationale Supérieure des Mines, Paris, Francia                                  |
| ECOSAT        | Programa de cálculo de especiación química y transporte de masa en sistemas agua-suelo  | Soil Chemistry and Chemical Soil Quality Group. University of Wageningen, Netherlands |
| EQ3/6         | Grupo de programas de ordenador y bases de datos asociadas para la modelización de los procesos geoquímicos complejos que ocurren cuando disoluciones acuosas (aguas subterráneas, aguas salinas, vertidos) reaccionan con suelos, rocas o residuos sólidos. Puede modelizar la disolución y la precipitación de minerales, la lixiviación y la incorporación de metales traza y otros componentes inorgánicos en minerales secundarios   | Lawrence Livermore National Laboratory, EE.UU.  |
| JESS          | Modelización de la especiación química en medios acuosos complejos. Se diseñó, entre otros, con el objetivo de avanzar en la resolución de cuestiones clave como la construcción de bases de datos coherentes desde un punto de vista termodinámico   | Murdoch University, Australia e Insight Modelling Services, South Africa              |
| MINTEQA2      | Distribuido por la USEPA. Calcula equilibrios entre fases en disolución, gaseosas, sólidas, adsorbidas, etc. Incluye una extensa base de datos termodinámicos   | USEPA, EE.UU.   |
| MINEQL+       | Modelización del equilibrio para cálculos de especiación química de aguas de superficie, subterráneas, equilibrios minerales, cálculos de pH, redox, corrosión. Está basado en MINTEQA2   | Environmental Research Software, EE.UU.   |
| PHREEQC       | Realiza una amplia variedad de cálculos geoquímicos acuosos a baja temperatura. Permite realizar: 1) cálculos de especiación y de índice de saturación; 2) reacciones en discontinuo y cálculos de transporte unidimensional con reacciones reversibles (equilibrios acuosos, minerales, gas, sólido-disolución, complejación de superficie, de intercambio iónico) e irreversibles (reacciones controladas cinéticamente, mezcla de disoluciones, cambios de temperatura); y 3) modelado inverso | USGS, EE.UU   |
| VISUAL MINTEQ | Versión Windows de la versión 4.0 de MINTEQA2, distribuida por la USEPA en 1999. Su objetivo es facilitar la utilización de las potencialidades de MINTEQA2 por estudiantes y postgraduados en química del suelo y del agua   | Department of land and water resources engineering, KTH, Suecia                       |
| WHAM          | Cálculos de especiación de aguas  | CEH, Windermere, Reino Unido  |

### **I.3.2. METODOLOGÍA PARA LA ESPECIACIÓN METÁLICA EN LOS COMPARTIMENTOS DEL MEDIO ACUÁTICO**

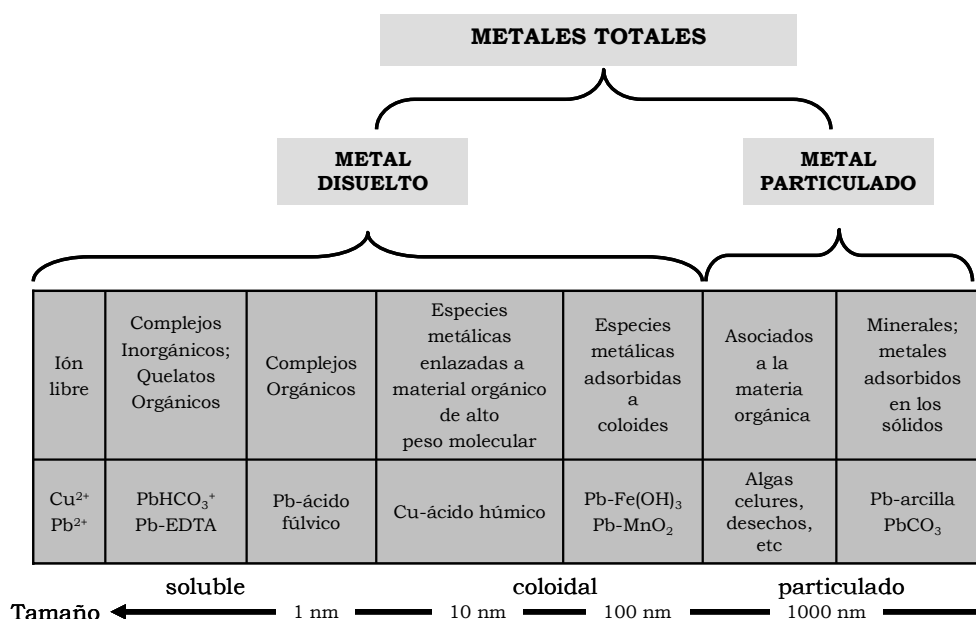
---

#### **I.3.2.1. ESPECIACIÓN EN AGUAS NATURALES**

La gran complejidad que muestran los sistemas acuáticos hace que los estudios de especiación en el medio acuático presenten una elevada dificultad. Esta complejidad se debe a que contienen la mayoría de los elementos de la tabla periódica (a menudo presentes en una gran variedad de formas químicas), así como una variedad infinita de compuestos orgánicos; a esto hay que unir los bajos niveles de concentración que suelen presentar los metales en las aguas naturales. Además los compuestos presentes en las aguas naturales cubren un amplio rango de tamaños, desde unos pocos Å (iones inorgánicos hidratados) hasta la escala macroscópica de 1 mm o más (desechos de los organismos). Los compuestos de un tamaño intermedio, como son los coloides inorgánicos y las macromoléculas orgánicas, juegan un papel importante en la regulación química del agua.

En la **Figura I.6** se resumen las fracciones metálicas presentes en las aguas naturales [LAXEN y HARRISON, 1981; DE MORA y HARRISON, 1982; FLORENCE, 1982; FLORENCE, 1983; SIMON y col., 2002].

La aplicación de los métodos analíticos a los estudios de especiación en el medio acuático se encuentra aún hoy día bastante limitada, a pesar del progreso tecnológico que se ha producido en las últimas décadas. Los métodos de caracterización (ej.: espectroscopía, resonancia magnética nuclear) se limitan al estudio de los compuestos aislados y para unas concentraciones relativamente elevadas, por lo tanto necesitan del empleo previo de técnicas de separación y preconcentración. Los métodos de análisis trazas (ej.: absorción atómica, activación neutrónica) a menudo no son sensibles para la forma química que se ha de medir. Aquellos que son lo suficientemente específicos (ej.: resonancia del spin electrónico, fluorescencia, voltamperometría) tienen todavía que ser desarrollados antes de poder aplicar todo su potencial [FILELLA y col., 2002].



**FIGURA I.6.** Fracciones físico-químicas de los metales en aguas naturales. Ejemplos de especies metálicas [LAXEN y HARRISON, 1981; DE MORA y HARRISON, 1982; FLORENCE, 1982; FLORENCE, 1983; SIMON y col., 2002].

Normalmente la especiación metálica se realiza en las aguas naturales mediante la aplicación de *esquemas de especiación* en los cuales se combinan métodos de análisis con métodos de separación en los que se fracciona la muestra en función del tamaño (ej.: filtración/ultrafiltración, filtración en gel) o en función de una combinación de carga y tamaño (ej: diálisis, intercambio iónico, extracción).

En especiación, el problema más obvio es obtener una muestra representativa en la que la integridad de las especies de interés permanezca intacta. De aquí que la recogida de las muestras pueda dar lugar a errores si no se toman las adecuadas precauciones. Así, por ejemplo, aunque normalmente la preservación de la muestra se efectúa por adición de ácido para el análisis de los contenidos totales, esto es inadecuado para estudios de especiación, debido a que puede dar lugar a cambios en el estado de oxidación y alteraciones en la distribución físico-química de las especies. Por esta razón, los procedimientos de muestreo y conservación de las muestras acuosas deben necesariamente adaptarse para que no se perturben los equilibrios establecidos entre las especies.

En general, los esquemas de análisis recomiendan que las muestras sean recogidas en botes de polietileno y filtradas a través de 0,45  $\mu\text{m}$  (separación de las fracciones filtrable y no filtrable), usando comúnmente un filtro de acetato de celulosa. En muchas ocasiones, este filtro se somete luego a digestión por vía húmeda (con ácidos nítrico o perclórico o mezcla de ambos) o bien a irradiación con microondas a 150°C para su posterior análisis. Las muestras, una vez filtradas, son almacenadas a 4°C inmediatamente después de la recogida hasta el momento de ser analizadas, que debe ser lo más pronto posible. En algunos casos, la filtración puede alterar también los equilibrios entre las especies existentes y provocar una redistribución entre las formas metálicas, ión metálico libre o complejos metálicos inorgánicos y orgánicos, como por ejemplo en el caso del aluminio. Por consiguiente, los procedimientos de separación y preconcentración no deben perturbar el equilibrio entre las varias especies en disolución.

Desafortunadamente, y hasta el momento, no hay un sistema *universal* o procedimiento que pueda aplicarse a todos los análisis de especiación de aguas naturales. El uso de esquemas que acoplan diferentes métodos analíticos depende fundamentalmente de los objetivos del análisis, del elemento que se desea analizar y del tipo de muestra [SANZ-MEDEL y col, 1999]. En este sentido, se puede encontrar gran variedad de métodos descritos en la bibliografía para el análisis de especiación.

En la década de los 50, cuando el análisis de especiación se relacionaba únicamente con los ciclos biológicos de los metales en la hidrosfera, se distinguieron dos formas de metales: metales en formas solubles y metales adsorbidos sobre la materia suspendida. Por tanto, era suficiente filtrar la muestra acuosa a través de un filtro de tamaño de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  para obtener la separación de las dos fases. Mas tarde, debido al desarrollo de los métodos electroquímicos fue posible la diferenciación de las formas químicas solubles de los metales (acuocaciones e iones complejos). Investigaciones paralelas del posible estado de equilibrio entre los iones y ligandos (orgánicos e inorgánicos) llegaron a la conclusión de que en el ambiente acuoso puede aparecer un amplísimo rango de formas metálicas.

En las últimas décadas se han desarrollado diferentes esquemas, los cuales se pueden clasificar en:

- Empleo de columnas de cambio iónico.
- Separación en función del pH.
- Separación por tamaños.

#### Columnas de cambio iónico

La determinación de la fracción de metales traza que fácilmente quedan retenidos por resinas de cambio iónico o quelatantes se usó desde principios de los años 70 como una forma de realizar esquemas simples de especiación aplicables a aguas naturales [ABDULLAH y col., 1976; BATLEY y FLORENCE, 1976a; BATLEY, 1987], y aún es empleada en la actualidad añadiendo modelos cinéticos para ampliar el número de fases de la especiación [RODRIGUEZ PROCOPIO y col., 1997; PESAVENTO y col., 1999].

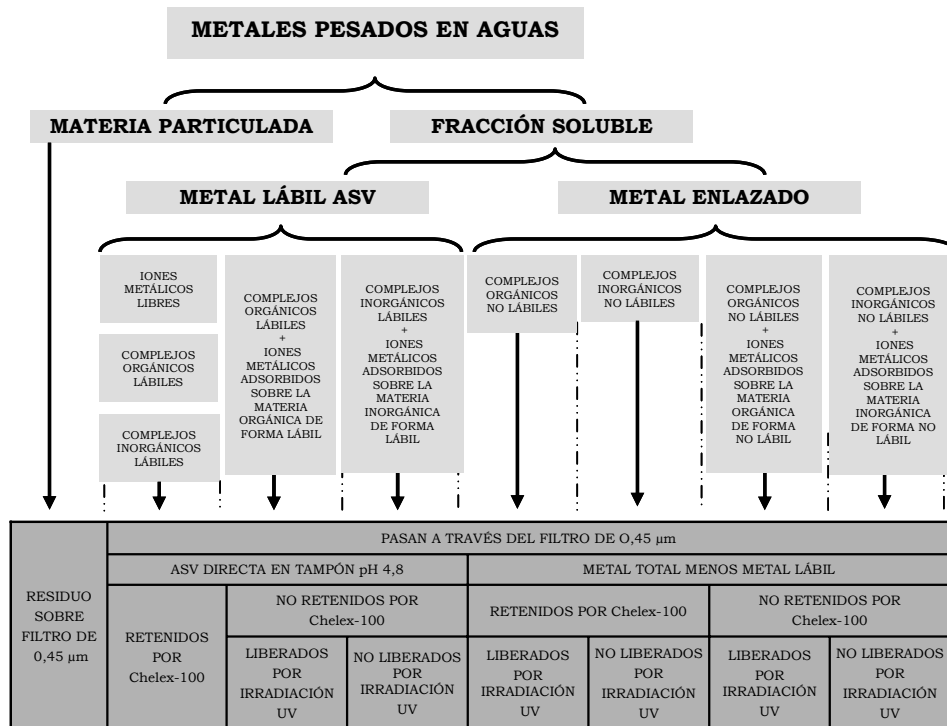
Las formas metálicas que son retenidas por este tipo de resinas incluyen las formas iónicas libres junto a las formas asociadas a complejos lábiles (orgánicos e inorgánicos) cuyas constantes de estabilidad son menores que la resultantes de la combinación de los metales traza con la resina [HART y DAVIES, 1977].

B.T. Hart y S.H.R. Davies [HART y DAVIES, 1977] propusieron a mediados de los 70 un método en continuo para la determinación de la fracción de metales traza (Cd, Cu, Pb, Zn y Fe) intercambiable con iones, que aplicaron a agua potable y agua de estuario (Estuario del río Yarra, Australia), empleando una resina Chelex. Una ventaja de este sistema en continuo frente a los esquemas que usaban columnas era su mayor rapidez.

En 1976, Batley y Florence [BATLEY y FLORENCE, 1976b] proyectaron un detallado esquema para el análisis de especiación de trazas de metales en agua, aplicable a aguas naturales y de mar. En él se combina las medidas por ASV antes y después de pasar la muestra a través de una columna Chelex®-100, además de un paso de digestión UV para destruir la materia orgánica. En este esquema se distinguen 7 posibles formas físicas y químicas (**Figura I.7**):

- Iones metálicos libres.
- Metales enlazados a ligandos orgánicos de forma lábil.
- Metales enlazados a ligandos orgánicos de forma estable.
- Metales que forman complejos inorgánicos lábiles.
- Metales que forman complejos inorgánicos estables.
- Metales adsorbidos sobre la materia orgánica.

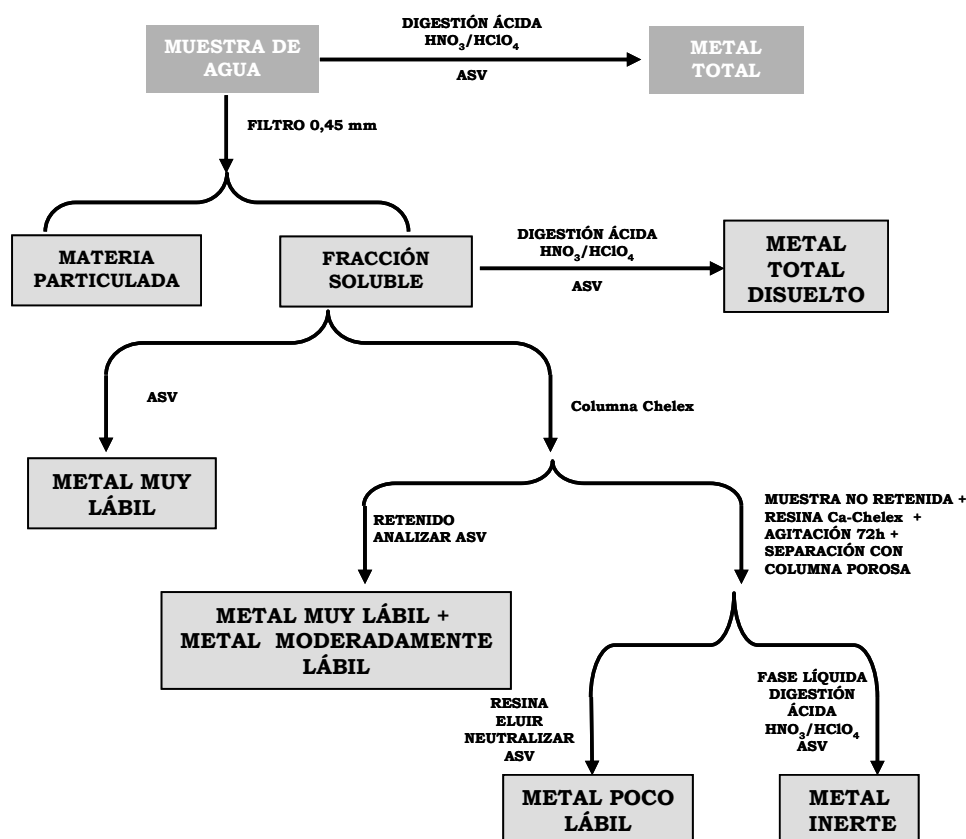
- Metales adsorbidos sobre la materia inorgánica.



**FIGURA I.7.** Esquema de especiación para metales pesados en agua propuesto por Batley y Florence [BATLEY y FLORENCE, 1976b].

Figura y McDuffie [FIGURA y McDUFFLE, 1980] han desarrollado un método para diferenciar especies de metales traza en muestras de agua de río (ríos St. Lawrence y Susquehanna y estuario del río Hudson, USA) sobre la base de su labilidad relativa. El método, esquematizado en la **Figura I.8**, emplea ASV y resina cambiadora Chelex en columnas sucesivas mediante un proceso en continuo. El esquema clasifica los metales disueltos en cuatro fases:

- ✓ Metal muy lábil.
- ✓ Metal moderadamente lábil.
- ✓ Metal poco lábil.
- ✓ Metal inerte.



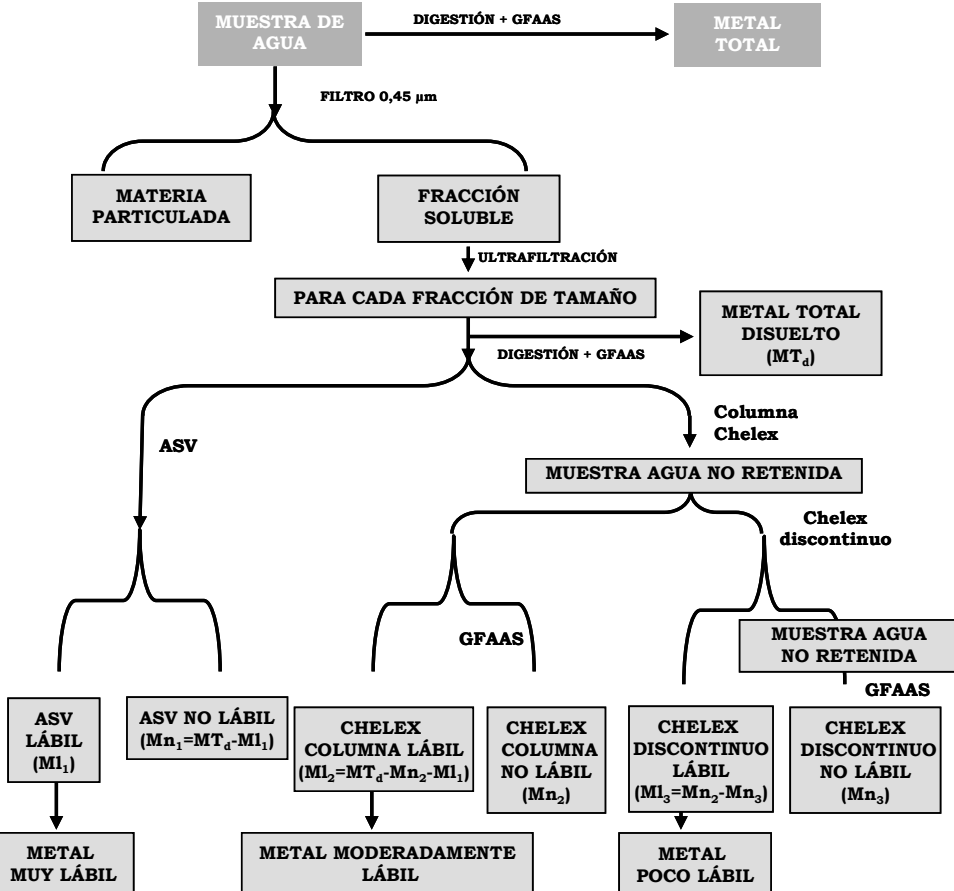
**FIGURA I.8.** Esquema general de especiación de aguas naturales propuesto por Figura y McDuffie [FIGURA y McDUFFLE, 1980].

El método anterior completa el análisis mediante el cálculo de los metales totales y los metales totales disueltos en agua realizando para ello la misma digestión que se aplica a la fracción inerte, la cuál consiste en una digestión ácida de 100 mL de muestra empleando una mezcla de  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  concentrados. En estas tres fases las muestras se preconcentran por evaporación. La muestra preconcentrada y digerida se enrasa en matraces aforados de 25 mL antes de su análisis por ASV. El pH de medida por ASV se ajusta por adición de tampón de ácido acético/acetato sódico 2,5 M hasta un valor alrededor de 4. La fracción muy lábil de metal disuelto en la muestra se obtiene por análisis directo por ASV de la muestra de agua filtrada. Una cantidad de muestra filtrada se pasa a través de una columna Chelex en forma cálcica, la fracción que queda retenida en la columna se eluye y se mide

directamente por ASV, esta fracción está formada por las fracciones muy lábil del metal y la fracción moderadamente lábil, por lo tanto esta última fracción se obtiene por diferencia. La muestra que pasa a través de la columna Chelex, se recoge en vasos de precipitado a los que se le añade 2 gramos de resina Ca-Chelex, se tapan con parafilm y se agitan durante 72 horas, tras lo cual con una columna porosa se separa la resina que contiene la fracción de metal poco lábil, se limpia con agua bidestilada, se eluye con  $\text{HNO}_3$ , se neutraliza parcialmente con  $\text{NH}_4\text{OH}$  y se mide por ASV. La fase no retenida por la extracción en discontinuo con Ca-Chelex contiene la fracción inerte la cual se digiere y mide por ASV como se ha descrito anteriormente.

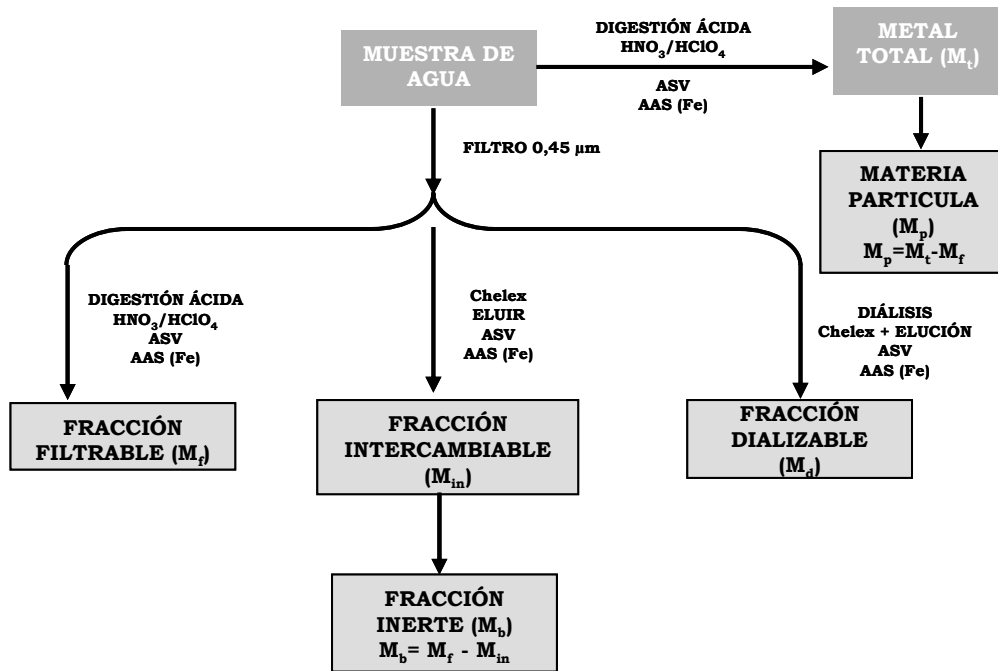
Chakrabarti [CHAKRABARTI y col., 1993] ha desarrollado un esquema en el que combina la especiación física por tamaños mediante ultrafiltración de las especies metálicas disueltas con la caracterización de las especies metálicas por su cinética de disociación. La cinética de disociación de los complejos metálicos se estudia por voltamperometría de redisolución anódica y por intercambio iónico con resina de intercambio catiónica Chelex-100, empleando la técnica de intercambio en columna e intercambio en discontinuo; para cada una de las fracciones de tamaño se calculan las fracciones muy lábil, moderadamente lábil y poco lábil (**Figura I.9**). La fracción muy lábil se mide directamente por ASV en la muestra de agua ultrafiltrada. La fracción moderadamente lábil se calcula por diferencia entre la fracción no lábil de la columna Chelex y la fracción lábil con el contenido de metal total disuelto para cada fracción de tamaño. La muestra no retenida por la columna Chelex se añade a la resina, se agita durante 144 horas y se mide en la fase líquida la fracción de metal no lábil por intercambio discontinuo. Con este valor y el valor de Chelex en columna no lábil se calcula por diferencia la fracción fracción poco lábil. Este esquema ha sido aplicado a muestras de agua de río, de lluvia y de nieve.





**FIGURA I.9.** Esquema general de especiación de aguas naturales propuesto por Chakrabarti [CHAKRABARTI y col., 1993].

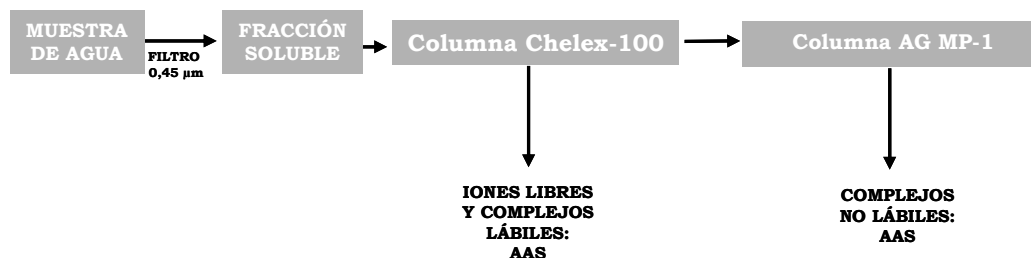
Hart y Davies [HART y DAVIES, 1977] han determinado la especiación de trazas metálicas de Fe, Cd, Cu, Pb y Zn en aguas de tres lagos (Lago Victorian: Tarli Karng, Tarago Reservoir y East Basin, Australia) usando una resina tipo Chelex combinada con una etapa de diálisis, al objeto de obtener información sobre las fracciones particuladas, filtrable, intercambiable con iones, dializable y enlazada. En la **Figura 1.10**, se detalla este esquema de especiación analítica.



**FIGURA I.10.** Esquema de especiación analítica empleado por Hart y Davies para el análisis de agua de lago [HART y DAVIES, 1977].

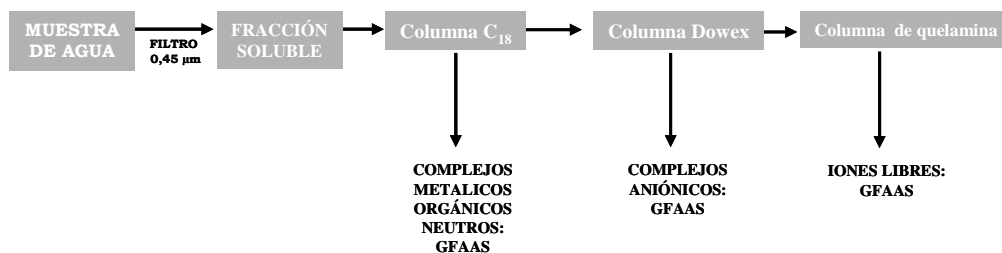
Liu e Ingle [LIU y INGLE, 1989a; LIU y INGLE, 1989b; LIU y INGLE, 1989c] han descrito un método para determinar la capacidad y estabilidad de los complejos de Cu en la fracción soluble de aguas naturales, empleando dos columnas en serie. En primer lugar hacían pasar el agua a través de una columna Chelex-100 de cambio catiónico para retener los metales traza lábiles disueltos, y en un segundo paso hacían atravesar el agua a través de una segunda columna AG MP-1 de resina macroporosa que retiene los complejos metálicos formados con la materia orgánica natural. El procedimiento fue aplicado a la determinación en continuo de especies de Cu, Cd y Zn en agua de río (Río Willamette, USA), tal como aparece en la **Figura I.11**. Jiann y Presley [JIANN y PRESLEY, 2002] han empleado el mismo sistema de dos columnas que los autores anteriores, colocadas también en serie (Chelex-100 y AG MP-1), y lo han usado para la preconcentración y separación de las especies en tres fracciones diferentes, que aplicaron al análisis de agua de río (Texas, USA). Así, completaron el esquema obteniendo una tercera fracción

“inerte”, por diferencia entre la concentración de metal disuelto total, determinado tras radiación UV, y la suma de las fracciones retenidas en las dos columnas.



**FIGURA I.11.** Esquema de fraccionamiento mediante dos columnas en serie propuesto por Liu y Ingle [LIU y INGLE, 1989a; LIU y INGLE, 1989b; LIU y INGLE, 1989c].

Otro ejemplo es la combinación de tres tipos de columnas,  $C_{18}$  en fase inversa, resina Dowex de cambio aniónico y resina de Quelamina, que ha permitido a Groscher y Apprior [GROSCHER y APPRIOR, 1994] la preconcentración y diferenciación simultáneas entre complejos metálicos orgánicos neutros, complejos aniónicos e iones libres de metales de transición presentes en muestras de agua naturales de matrices complejas. El método (**Figura I.12**) fue aplicado a muestras de aguas de río y mar. Una ventaja del esquema es la ausencia de tratamientos previos sobre la muestra, lo que evita la posibilidad de alterar los equilibrios naturales de éstas. Este método sustituía la tradicional resina Chelex por la resina de Quelamina (pentamina inmovilizada sobre un polímero orgánico), cuyas ventajas sobre la Chelex y propiedades para retener y preconcentrar metales traza en agua de mar habían sido probadas previamente [BLAIN y col., 1993]. El uso de tres columnas distintas se ha aplicado también para el estudio de la especiación en las aguas del mar de Ross (Antártida) [ABOLLINO y col., 2000]. En este caso el proceso se basa en la retención de formas metálicas con diferente comportamiento químico dentro de una resina de cambio aniónico, una  $C_{18}$  fase inversa y una resina Chelex 100 conectadas en serie.



**FIGURA I.12.** Sistema de preconcentración y especiación de metales traza en aguas naturales basado en tres columnas propuesto por Groscher y Apprior [GROSCHER y APPRIOR, 1994].

Lewis y Landing [LEWIS y LANDING, 1992] han planteado un esquema secuencial con columnas de filtración e intercambio iónico para realizar el fraccionamiento de muestras de agua de mar (mar Negro). El método permite separar rápidamente los metales de la columna del agua en fracción particulada y especies de tamaño coloidal, complejos metálicos orgánicos aniónicos disueltos y/o complejos sulfuro-metal, cationes metálicos libres (hidratados) y/o complejos iónicos lábiles. La primera columna es una resina cromatográfica de exclusión por tamaño (TSK/TOYOPEARL HW-75F), que separa las fracciones coloidales; la segunda es una columna de cambio aniónico (DEAE/TOYOPEARL DEAE-650M) que separa las especies cargadas negativamente; y, finalmente, otra columna de cambio iónico (SEASTAR 8-HQ) que separa las especies catiónicas metálicas. A su vez la materia particulada también es sometida a lixiviación secuencial separándose la fracción lixiviable con ácidos débiles, fracción lixiviable con ácidos fuertes y fracción inerte. Este esquema de especiación ha sido también empleado en agua de mar del Báltico [BRUGMAN y col., 1998].

Más recientemente se ha desarrollado una aplicación de las columnas de intercambio que permite la determinación en el punto de muestreo del metal total disuelto y la separación y discriminación entre el metal en forma de complejos orgánicos y el metal lábil disuelto basado en su interacción o competición con una resina quelatante, aplicado a aguas naturales y agua de mar. Este proceso combina dos plataformas automáticas que consisten en un módulo UV empleado para mineralizar la muestra orgánica y un módulo de quelación, preconcentración y eliminación de la matriz. Estos dos módulos permiten pretratar las muestras *in situ* justo después de su recogida y

filtración, y antes de almacenarla, lo cuál representa la mayor ventaja de este método [POINT y col., 2007].

### Cambios de pH

Duinker y Kramen han propuesto un esquema de especiación diferente a los anteriormente descritos, que separa las especies en dos fracciones en función del pH de medida, el cual aplicaron en aguas del río Rhin y del mar del Norte [DUINKER y KRAMEN, 1977]. Otro ejemplo de fraccionamiento basado en cambios de pH se ha aplicado para realizar el fraccionamiento analítico del agua de mar costera (Inner Oslofjord, Noruega) empleando un sistema de ultrafiltración, seguido de medidas por DPASV a pH natural y pH ácido [HASLE y ABDULLAH, 1981]. Otros investigadores han adoptado un esquema similar, basado en cambios de pH, que recoge tres categorías [FISCHER y col., 1984]:

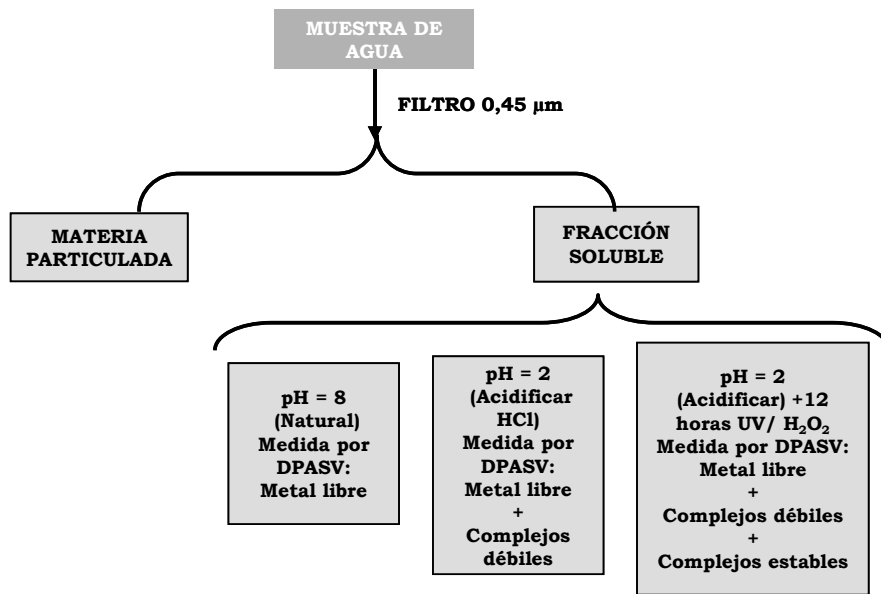
- ✓ Metales libres.
- ✓ Metales formando complejos que son inestables a bajo pH.
- ✓ Metales que forman complejos estables que se destruyen en medio ácido por radiación ultravioleta.

Este método de fraccionamiento, que aparece detallado en la **Figura I.13**, se empleó en el análisis de aguas del estuario y bahía del río Sena, Francia. Este mismo esquema lo ha empleado George para determinar Cd, Pb y Cu en el agua de tres lagos hindúes (Kavaratti, Agatti y Kalpeni) [GEORGE, 1988].

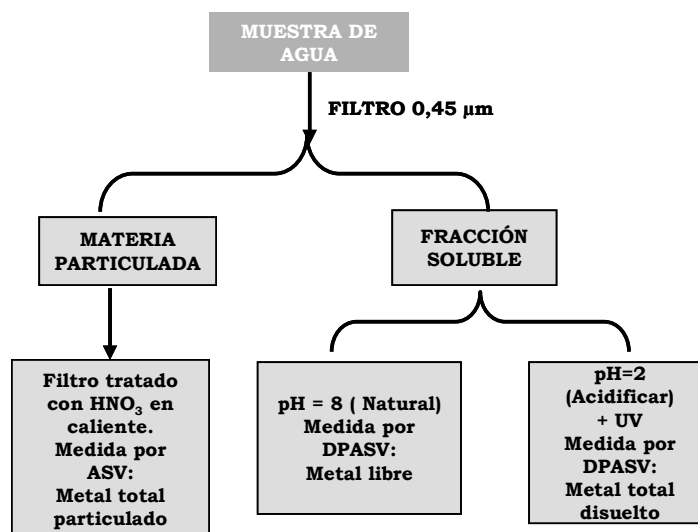
El esquema de fraccionamiento basado en cambios de pH ha sido muy utilizado desde su descripción con algunas variaciones, debido a su simplicidad. Así, Batley ha descrito un esquema de fraccionamiento sobre esta base, en el que se obtienen dos fracciones de la fase disuelta [BATLEY, 1987]:

- ✓ Iones metálicos libres, medidos por ASV a pH natural.
- ✓ Metales totales, medidos por ASV previa acidificación y digestión UV de la muestra.

Tal como se aprecia en el esquema recogido en la **Figura I.14**, se realiza una digestión ácida de los filtros para determinar el contenido total de metales en la fracción particulada. Este esquema se ha aplicado a muestras de agua de lago.

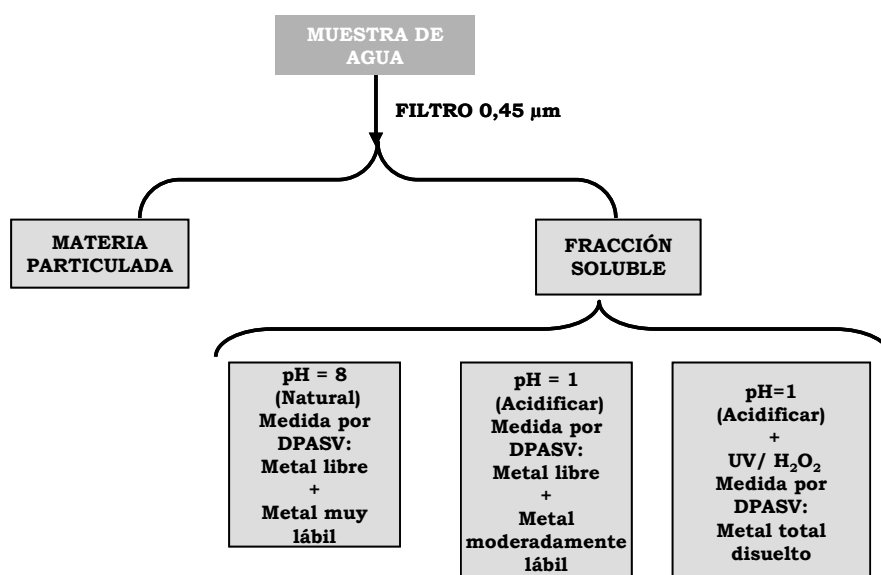


**FIGURA I.13.** Esquema de especiación aplicable a aguas naturales propuesto por Fischer, Nganou y Wartel [FISCHER y col. ,1984].



**FIGURA I.14.** Esquema de especiación de agua propuesto por Batley [BATLEY, 1987].

Un esquema de fraccionamiento muy similar al de Fischer fue empleado por Baeyens y col. (**Figura 1.15**), que estudiaron durante varios años el comportamiento de los metales en las aguas del estuario del Scheldt (Bélgica) obteniendo una fracción “muy lábil” a pH natural (entre 7 y 8) y otra “moderadamente lábil”, que coincidía con la diferencia entre el valor obtenido a pH natural y el medido tras acidificar hasta pH 1; mediante digestión ultravioleta de la muestra acidificada se obtiene el metal total disuelto en disolución y la diferencia entre la concentración de metal total disuelto y la concentración medida en condiciones ácidas (pH=1) corresponde con la suma de la “fracción muy poco lábil” y la “fracción inerte” [BAEYENS y col., 1998].



**FIGURA 1.15.** Esquema de especiación aplicable a aguas naturales propuesto por Baeyens [BAEYENS y col., 1998].

### Diferencias de tamaño

Por otro lado, es posible encontrar en la bibliografía esquemas que se basan en la diferenciación de fases en función del tamaño de las especies. Hay que hacer notar que aunque las técnicas de exclusión por tamaño facilitan la separación rápida de la matriz de la muestra, se han usado generalmente para

separar compuestos metal-ligando orgánico de gran tamaño [GARDNER y col., 1982].

Un ejemplo típico es el fraccionamiento realizado con membranas de diferente tamaño de poro. El fraccionamiento más obvio es la separación entre especies disueltas y particuladas, pero el fraccionamiento en función del tamaño molecular es también posible usando membranas adecuadas. Sin embargo, se debe tener presente que la distinción entre las fracciones disuelta y particulada es arbitraria y que el resultado obtenido con una disposición dada es críticamente dependiente de las condiciones de operación. Así, la retención de partículas coloidales de hierro sobre filtros de membrana estándar de 0,45 micras depende grandemente de la colmatación del filtro, ya que cuando el filtro comienza a colmatarse se retienen también muchas partículas pequeñas [FELDHAUS y col., 2002].

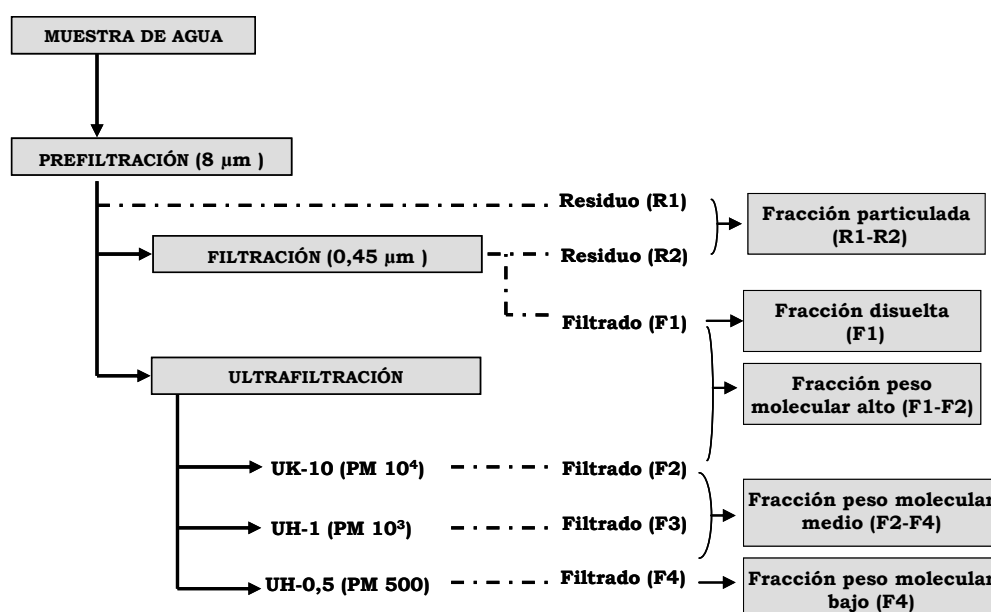
En torno a la década de los setenta se empezaron a emplear los métodos de fraccionamiento por tamaños utilizando las técnicas de filtración para realizar la especiación de metales trazas en aguas naturales. En esta línea, Laxen y Harrison emplearon un esquema en el que la especiación se deduce a partir de diferencias de tamaño, labilidad con respecto a ASV, resina Chelex e irradiación ultravioleta para destruir los complejos orgánicos [LAXEN y HARRISON, 1983]; este esquema fue aplicado a aguas de río afectadas por efluentes industriales. R.G. Smith ha propuesto la técnica de ultrafiltración para realizar el fraccionamiento de la materia orgánica disuelta presente en aguas de estuario (Estuario del río Ogeechee, Georgia, USA) en función del peso molecular; después los metales asociados a dichas fracciones fueron determinados por DPASV [SMITH, 1976].

Entre las ventajas de este tipo de técnicas, se puede destacar la de su simplicidad, además de producir baja contaminación, puesto que no se utilizan procesos químicos de separación. Por otra parte, estudios previos han demostrado que se puede determinar la fracción de metal enlazado a los coloides por diferencia entre la fracción filtrada a través de 0,45  $\mu\text{m}$  y la fracción ultrafiltrada [DAI y MARTIN, 1995; WEN y col., 1996].

Tanizaki y col. han resuelto diferentes formas fisicoquímicas de hasta 39 elementos en varias muestras de agua de dos ríos japoneses (ríos Tamagawa y Sagami-gawa). Para ello, emplearon un esquema basado en un



fraccionamiento por tamaño y el uso de la técnica de análisis por activación neutrónica para estimar la forma fisicoquímica de las especies [TANIZAKI y col., 1992]. La distribución de las especies por tamaño y por peso molecular fue calculado de acuerdo al esquema representado en la **Figura I.16**, cada elemento o componente se separa primero en dos fracciones, la fracción particulada y la fracción disuelta. Dentro de la fracción disuelta se distinguen tres fracciones en función de tener peso molecular alto, medio o bajo. La primera fracción se corresponde con los minerales de arcilla, hidróxidos metálicos y coloides orgánicos (ácidos húmicos, proteínas); la segunda fracción la componen los complejos orgánicos solubles (ácidos fúlvicos, ácidos grasos) y los complejos inorgánicos (polihidroxo complejos, polisilicatos) y la última fracción está formada por pequeñas moléculas orgánicas, hidroxicomplejos, iones libres y pares iónicos.

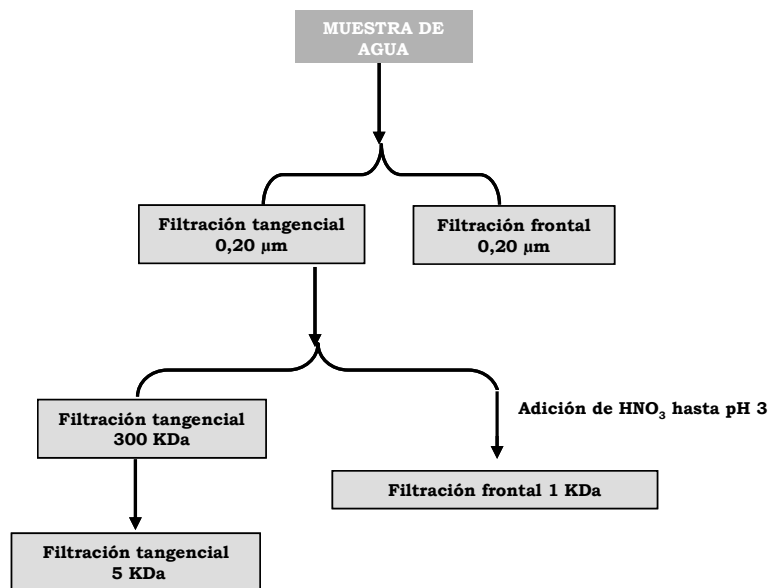


**FIGURA I.16.** Esquema del fraccionamiento basado en técnicas de ultrafiltración empleado en agua de río por Tanizaki (PM=peso molecular) [TANIZAKI y col., 1992].

Dupré y col. han aplicado un esquema de fraccionamiento basado en la técnica de ultrafiltración a aguas naturales con alta carga orgánica procedentes de un río de Camerún [DUPRÉ y col., 1999]. El fraccionamiento,

que aparece esquematizado en la **Figura I.17** y se realiza a valores ligeramente ácidos ( $\text{pH}=3$ ), emplea tanto la filtración frontal como tangencial para separar en cuatro fracciones en función del tamaño molecular ( $0,20\ \mu\text{m}$ ;  $300000\ \text{Da}$ ;  $5000\ \text{Da}$  y  $1000\ \text{Da}$ ) y su objetivo es preveer la afinidad de los elementos mayoritarios y traza para formar complejos organometálicos con las sustancias húmicas. En estos estudios se identifica la concentración metálica libre en las aguas con la concentración medida en el filtrado de  $1000\ \text{Da}$ , mientras que la concentración de metal que forma complejo con la sustancia húmica se calcula como la diferencia entre la concentración total y la concentración de metal libre.

Otra forma de fraccionamiento es utilizar el denominado fraccionamiento de campo de flujo “*field-flow*” (FFF) [MURPHY y col., 1993]. Se trata de combinar un campo (gravitacional, térmico o hidráulico) que actúa sobre los coloides o las partículas, de forma perpendicular a un perfil parabólico de flujo laminar dentro de un canal estrecho. Las partículas suspendidas son separadas en fracciones de tamaño específico por sedimentación (FFF). Este tipo de fraccionamiento se ha usado en la distribución de complejos coloidales en materia suspendida particulada de río.



**FIGURA I.17.** Proceso de ultrafiltración frontal y tangencial para el fraccionamiento de aguas de río aplicado por Dupré [DUPRÉ y col., 1999].

La sedimentación FFF ha sido también aplicada en línea con ICP-MS para la caracterización de trazas metálicas (Cs, Cd, Cu, Pb, Zn y La) en partículas más grandes, tanto en muestras de agua del mar Báltico como de agua corriente [HASSELLOV y col., 1999]. Este tipo de técnicas necesitan mejoras adicionales, pero pueden ser de gran ayuda en estudios sobre el transporte de elementos metálicos en ríos, estuarios y acuíferos.

En algunos casos la versión de corrientes cruzadas de FFF acoplada con ICP-MS, ha permitido estudiar las distribuciones de elementos en coloides de aguas marinas profundas, como paso previo al estudio de distribución de elementos traza en función del peso molecular [LYVÉN y col., 1997].

#### I.3.2.2. ESPECIACIÓN EN SEDIMENTOS

Los análisis de especiación de un elemento en suelos y sedimentos presentan numerosas dificultades. En primer lugar, la determinación directa de la especiación en el material sólido, sin separación previa de las especies de la matriz, generalmente está limitada a los componentes mayoritarios, ya que pocas de las técnicas directas de análisis disponibles poseen la sensibilidad suficiente para analizar los elementos trazas. Además, recurrir a los procedimientos de separación o de extracción de los elementos presenta el problema habitual de mantener la especiación de los elementos sin cambios durante los mismos. A pesar de estas dificultades, los estudios de especiación de algunos elementos, como por ejemplo la disponibilidad de los nutrientes por los cultivos, han sido un tema muy importante en la ciencia del suelo del último medio siglo.

La especiación en sólidos y sedimentos abarca tanto las formas químicas como físicas que un elemento toma en un compartimento geoquímico. Una detallada definición de especiación incluye los siguientes aspectos [FÖRSTNER, 2004]:

1. La identificación del contaminante que preocupa o interesa.
2. El estado de oxidación del contaminante.
3. Las asociaciones y complejos con los sólidos y especies disueltas (complejos de superficie, enlaces metal-ligando, precipitados de superficie).
4. La geometría molecular y coordinación medioambiental del metal.

En la **Tabla I.5** se resumen algunas de las diferentes asociaciones encontradas para los metales pesados en los sistemas acuáticos sedimentarios, así como los posibles mecanismos de liberación del metal [PICKERING, 1986; PICKERING, 2002].

**TABLA I.5.** Asociaciones de los iones metálicos en sedimentos de sistemas acuáticos [PICKERING, 1986; PICKERING, 2002].

| COMPONENTES DE LOS SEDIMENTOS  | ORIGEN DEL CONTENIDO METÁLICO   | MECANISMO DE LIBERACIÓN  |
|--|---|--|
| Fragmentos de roca (minerales)<br>Diferentes tamaños de grano (grava, arena, limo) | Metales enlazados principalmente en posiciones inertes, en las estructuras cristalinas  | Destrucción completa de la estructura  |
| Capas de fragmentos (p.ej. $\text{CaCO}_3$ )                                       | Adsorbidos físicamente por pseudomorfosis, coprecipitados con los carbonatos  | Disminución del pH<br>Cambios en $\text{pCO}_2$                                    |
| Orgánicos (lípidos, sustancias húmicas, residuos orgánicos)                        | Adsorbidos físicamente<br>Complejos metálicos<br>Adsorbidos químicamente (intercambiados por $\text{H}^+$ en los grupos ácidos y alcohólicos) | Modificación del pH<br>Destrucción de la fracción orgánica                         |
| Precipitados (e.j. hidróxidos, carbonatos, sulfuros)                               | Precipitación por saturación de las especies solubles en la fase acuosa   | Procesos que aumentan la solubilidad (e.j. disminución de pH, agentes quelatantes) |
| Hidróxidos y óxidos de Fe/Mn   | Coprecipitación de los hidróxidos metálicos<br>Adsorción física<br>Adsorción química (intercambio de protones)                                | Disolución parcial en ácidos<br>Reducción de Fe y Mn                               |
| Sulfuros   | Coprecipitación con los sulfuros  | Oxidación de sulfuros  |
| Carbonatos   | Formando parte de conchas   | Disolución en ácidos débiles   |
| Compuestos ácidos orgánicos  | Salas de metales poco solubles  | Variación de pH<br>Destrucción de la materia orgánica                              |

Uno de los métodos de especiación en sedimentos más antiguo y simple consiste en separar los granos de mineral antes del análisis químico, manualmente o con ayuda de un microscopio o del instrumental adecuado,

por ejemplo mediante separación magnética o flotación mineral pesada. En la práctica, sin embargo, estas técnicas requieren demasiado tiempo.

La concentración metálica total en los sedimentos tiende a variar con el tamaño de partícula: las mayores concentraciones se encuentran en las partículas de menor tamaño ( $<63\ \mu\text{m}$ ). Los procedimientos de separación física, por diferentes tamaños, implican por lo general el tamizado, la sedimentación por gravedad en un gradiente de densidad de un líquido pesado o la centrifugación diferencial. Esta última técnica es especialmente útil en el fraccionamiento de partículas del rango de tamaño coloidal [KERSTEN y FÖRSTNER, 1989; KERSTEN, 2002]

Entre los métodos directos para determinar la forma química de un elemento o su estado de oxidación en suelos y sedimentos se incluye la Espectrometría de Absorción Infrarroja, Difracción de Rayos X, Espectroscopía de Fotoelectrón (Extended X-Ray absorption fine structure spectroscopy (EXAFS), Espectroscopía de absorción de rayos X cerca del umbral (XANES) y más recientemente, la Resonancia Magnética Nuclear, y la Espectrometría Mössbauer. Con estas técnicas se han determinado las especies de los elementos mayoritarios en los componentes de los suelos y sedimentos, como los minerales de arcilla, hierro, manganeso y los oxihidróxidos de aluminio y materiales húmicos, así como la estructura de estos componentes [URE y DAVIDSON, 2002]. Como se ha indicado anteriormente el uso de estos métodos directos en la actualidad es bastante limitado debido a su falta de sensibilidad, en el caso de la Espectrometría de Mössbauer debido al número limitado de elementos al que es aplicable, o en técnicas altamente sensibles como la Espectroscopía de Fotoelectrón debido a que requieren un sincrotrón como fuente de energía, estando éste disponible en muy pocos laboratorios de investigación.

Por todo ello, los métodos de análisis de especiación más ampliamente utilizados en sedimentos son los métodos de extracción, tanto simple como secuencial [QUEAVAUILLIER, 1998a], los cuales permiten liberar los elementos que se encuentran asociados o forman enlace con una fracción particular o componente de la fase sólida [URE y col., 1995]. Los esquemas de extracción, fueron desarrollados a principio de los años 80 con el objetivo de evaluar la biodisponibilidad de los elementos trazas para las plantas y estudiar su accesibilidad.

### Extracción simple

Estos procedimientos de extracción, en su mayoría, han sido validados de manera experimental estableciendo correlaciones entre las respuestas de las plantas y el contenido de los extractos. Las principales características de los métodos de extracción simples apuntan a que son métodos sencillos, baratos y rápidos, estando su uso restringido al estudio de sistemas con una alta concentración metálica [FÖRSTNER, 2004; ETTLER y col., 2007; CAPPUYNS y SWENNEN, 2008].

Como se ha indicado en la **Tabla I.5**, los elementos trazas de los suelos y los sedimentos pueden aparecer enlazados a los componentes de los suelos en una gran variedad de formas, que van desde uniones débiles, hasta adsorciones físicas de carácter fuerte sobre las estructuras de los minerales. Con tal heterogeneidad y variedad de sitios de unión, tipos y fuerzas de enlaces no sorprende el gran número de métodos de extracción simple que han sido propuestos a lo largo de las últimas décadas. Estos métodos se agrupan en cuatro grandes grupos atendiendo a la naturaleza del extractante empleado: extracción ácida, agentes complejantes, disoluciones tampón y disoluciones salinas no tamponadas [RAURET, 1998]. La **Tabla I.6** recoge algunos de los extractantes más usados en los métodos de extracción simple. Puede observarse que existe un amplio espectro de reactivos extractantes, desde ácidos muy fuertes como agua regia, ácido nítrico o ácido clorhídrico hasta disoluciones neutras de sales de pH no tamponado como es el caso del cloruro cálcico o nitrato sódico. Otros extractantes como las disoluciones tampón salinas o los agentes quelatantes son utilizados frecuentemente ya que dan lugar a compuestos bastantes estables y solubles en agua para un número elevado de cationes.

**TABLA I.6.** Extractantes simples más utilizados para evaluar la biodisponibilidad de los elementos trazas contenidos en suelos y sedimentos [RAURET, 1998].

| NATURALEZA DEL EXTRACTANTE         | EXTRACTANTE   |
|------------------------------------|---|
| Extracción ácida                   | HNO <sub>3</sub><br>Agua regia<br>HCl<br>CH <sub>3</sub> COOH<br>HCl + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>               |
| Agente complejante                 | EDTA<br>DTPA + TEA + CaCl <sub>2</sub>  |
| Disoluciones tampón                | HAcO / NH <sub>4</sub> AcO<br>(tamponado a pH 7 y 4,8)  |
| Disoluciones salinas no tamponadas | CaCl <sub>2</sub><br>NaNO <sub>3</sub><br>NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub><br>AlCl <sub>3</sub><br>BaCl <sub>2</sub> |

EDTA=ácido etilendiaminotetracético

DTPA=ácido dietilentriaminopentacético

TEA=trietanolamina

HAcO=ácido acético

Además de los reactivos mencionados se ha utilizado el agua caliente como extractante para la determinación de boro y también disoluciones de hidróxido de sodio para valorar la influencia de la materia orgánica en la liberación de los metales pesados.

El desarrollo de las técnicas analíticas empleadas en la determinación de los extractos, junto con el aumento de las evidencias respecto a que el metal intercambiable es el que mejor se correlaciona con el disponible para las plantas, ha provocado que los procedimientos más aceptados sean aquellos que utilizan reactivos extractantes menos agresivos. Estos reactivos, que en algunas ocasiones son denominados extractantes suaves “soft extractans”, están constituidos por disoluciones de sales no tamponadas, algunas disoluciones diluidas de ácidos y determinados agentes complejantes. Las sales neutras disuelven principalmente el metal intercambiable, aunque debe tenerse en cuenta las características del anión. Los ácidos diluidos extraen parcialmente el metal intercambiable, unido a carbonatos, unido a óxidos de hierro y manganeso y a la materia orgánica. Los agentes complejantes no extraen únicamente el metal intercambiable sino también elementos que

forman complejos con la materia orgánica y que están fijados en los hidróxidos.

Actualmente se acepta de forma general que los extractantes no son selectivos y que variaciones en el procedimiento analítico pueden dar lugar a efectos significativos en los resultados obtenidos.

#### Extracción secuencial

La especificidad del proceso de extracción puede mejorarse mediante la combinación de varios extractantes en un esquema de extracción secuencial, en el que el residuo de una extracción se extrae en la siguiente secuencia de extracción del esquema. El objetivo de este método de extracción secuencial es que el empleo de sucesivos reactivos (simples o mezcla) puede liberar paso a paso el metal asociado a las fracciones o fases específicas tanto de sedimentos como de suelos, de modo que se delimita más el acceso de cada reactivo a una fase en concreto y aumenta de este modo la especificidad del método [BAEYENS y col., 2003].

Desde finales de la década de los 70 y principios de los 80 se han desarrollado una gran variedad de esquemas secuenciales de extracción; en la **Tabla 1.7** se muestran algunos ejemplos de estos esquemas que han sido descritos en la bibliografía [PICKERING, 1986; URE y col., 1995].



**TABLA I.7.** Esquemas de extracción secuencial aplicables a sedimentos: subclasificación de las fases y reactivos utilizados [PICKERING, 1986; URE y col., 1995].

| SOLUBLE          | INTERCAMBIABLE                                       | CARBONATO   | FÁCILMENTE REDUCIBLE                 | MODERADAMENTE REDUCIBLE                          | NO SILICATO (ÓXIDO DE Fe)                          | ENLAZADO A COMPUESTOS ORGÁNICOS SULFUROS        | RESIDUAL   |
|------------------|--|---|--------------------------------------|--|--|---|--|
| H <sub>2</sub> O |  | HAcO /NH <sub>2</sub> OH                          |                                      |  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                      |   |  |
|                  | 1M MgCl <sub>2</sub> o<br>1M NaAcO<br>(pH 8,2)       | HAcO /NaAcO<br>pH 5                               | HAcO /NH <sub>2</sub> OH             |  | DCB  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /HNO <sub>3</sub> | HF/HClO <sub>4</sub>   |
|                  | 1M MgCl <sub>2</sub>                                 | NaAcO pH 5  | HAcO /NH <sub>2</sub> OH             |  |  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /HNO <sub>3</sub> | HF/HClO <sub>4</sub><br>HNO <sub>3</sub> o HClO <sub>4</sub>     |
|                  | 1M NH <sub>4</sub> AcO                               | NaAcO pH 5  | HNO <sub>3</sub> /NH <sub>2</sub> OH | HO <sub>x</sub> /NH <sub>4</sub> O <sub>x</sub>  |  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /HNO <sub>3</sub> | HF/HClO <sub>4</sub><br>(HNO <sub>3</sub> )                      |
|                  | 1M NH <sub>4</sub> AcO                               |   | HNO <sub>3</sub> /NH <sub>2</sub> OH | HO <sub>x</sub> /NH <sub>4</sub> O <sub>x</sub>  |  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /HNO <sub>3</sub> | HNO <sub>3</sub>   |
|                  | 1M NH <sub>4</sub> AcO                               | Intercambiador<br>catiónico ácido<br>o NaAcO pH 5 | HNO <sub>3</sub> /NH <sub>2</sub> OH | HO <sub>x</sub> /NH <sub>4</sub> O <sub>x</sub>  | DCB  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                   | HF/HClO <sub>4</sub>   |
|                  | 1M NH <sub>4</sub> AcO                               | HAcO  | HAcO /NH <sub>2</sub> OH             |  | DCB  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                   | HNO <sub>3</sub> /HCl/HF   |
|                  | 1M MgNO <sub>3</sub>                                 |   |                                      | NH <sub>4</sub> O <sub>x</sub> pH 3              | NH <sub>4</sub> O <sub>x</sub> /ácido<br>ascórbico | NaClO   | NH <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 10H <sub>2</sub> O |
|                  | pH 5   | HAcO /NaAcO                                       | NH <sub>2</sub> OH                   |  |  |   | HF/ HNO <sub>3</sub>   |
|                  |  | HCl   | NH <sub>2</sub> OH pH 2,5            | HO <sub>x</sub> / NH <sub>4</sub> O <sub>x</sub> | DCB  | NaClO   | HNO <sub>3</sub> o HClO <sub>4</sub>                             |
|                  | 0,2M BaCl <sub>2</sub> ,<br>Trietanolamina<br>pH 8,1 | Intercambiador<br>catiónico ácido                 | HAcO /NH <sub>2</sub> OH             |  |  | 0,1M NaOH                                       |  |
| H <sub>2</sub> O | HAcO /NH <sub>4</sub> AcO                            |   | HAcO /NH <sub>2</sub> OH             |  | N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> HCl                  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /HNO <sub>3</sub> | HClO <sub>4</sub>  |
| H <sub>2</sub> O | 1M KNO <sub>3</sub>                                  | NH <sub>4</sub> F                                 | NH <sub>2</sub> OH.HCl               |  | DCB  | Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>   | HNO <sub>3</sub>   |

DCB-ditionato/citrato/bicarbonato

AcO- acetato

Ox- oxalato

La gran diversidad y la falta de uniformidad tanto de los métodos de extracción simple, así como de los esquemas de especiación secuencial no permitía la comparación de los resultados [JOUNNEAU y col., 1983; NIREL y MOREL, 1990; HLAVAY y col., 2004]. A esto, se sumaba la ausencia de materiales de referencia adecuados para la validación de la metodología. Estos problemas unidos a las muchas fuentes de errores aleatorios que presentaban estos métodos, hacía pensar que el uso de los esquemas de extracción sería abandonado de manera progresiva. Sin embargo, dada la valiosa información que proporcionaban estos métodos, el “Community Bureau of Reference” (BCR), actualmente “Mesasurements and Testing Programme”, inició un programa de trabajo para estandarizar esquemas de extracción simple y secuencial para la determinación de metales trazas extraíbles en suelo y sedimento.

Este programa empezó en 1987 con la comparación de los procedimientos existentes probados en dos ejercicios interlaboratorios [URE y col., 1993a, URE y col., 1993b]. Se discutió el desarrollo de este programa extensivamente en un taller organizado por el BCR en 1992 [QUEVAUVILLER y col., 1993] que fue reconocido por ser un “punto de inflexión” en el uso de estos esquemas en Europa [SALOMONS, 1993]. La estrategia de trabajo desarrollada por el BCR en este programa se ha descrito en detalle por Quevauviller [QUEVAUVILLER y col., 1993; QUEVAUVILLER y col., 1994]. En esta estrategia se incluía en primer lugar el diseño de los procedimientos estándar de extracción simple y secuencial para el análisis de suelos y sedimentos, la realización de ensayos interlaboratorios de estos procedimientos de extracción y, por último, la preparación de muestras de referencias certificadas para los metales extraíbles. Estos trabajos culminaron con la propuesta de un procedimiento de extracción secuencial, el denominado “**método BCR**”.

Este método de extracción secuencial emplea tres pasos de extracción sucesivos y el posterior análisis del residuo. Siguiendo los pasos descritos aparecen tres fases líquidas y un residuo sólido que se corresponden con:

- **Fase 1 o intercambiable:** incluye los metales en forma de iones solubles e intercambiables los cuales pueden ser liberados por agua y ácidos débiles. El extractante empleado es el ácido acético.

- **Fase 2 o reducible:** incluye los metales asociados a los óxidos de hierro y manganeso. Los metales presentes en esta fase pasarán al agua cuando el sedimento se encuentre bajo condiciones reductoras. Se emplea como extractante el cloruro de hidroxilamina.
- **Fase 3 u oxidable:** Son aquellos metales asociados a la materia orgánica y sulfhídrica que se liberan al pasar a condiciones oxidantes. Se emplea como extractante peróxido de hidrógeno/acetato amónico.

El ácido acético libera los metales asociados con carbonato cálcico, caolinita, feldespato potásico y ferrihidrita. El cloruro de hidroxilamina libera los metales procedentes de montmorillonita y dióxido de manganeso, así como el níquel del ácido húmico. Los óxidos de hierro deben esperar a ser atacados por este agente reductor, pero la mayoría de los metales ya han sido lixiviados por el primer extractante (ácido acético). Esto puede reflejar la elevada capacidad de adsorción de la ferrihidrita. La tercera extracción con peróxido de hidrógeno/acetato amónico posee la fuerza necesaria para digerir la materia orgánica y el material sulfhídrico.

En un trabajo más reciente Quevauviller presentó los resultados de la campaña de certificación en la extracción de metales traza en un sedimento candidato a material de referencia, CRM 601 (que corresponde a muestras de sedimento recogidas en el lago Maggiore en Italia en el año 1994), siguiendo el esquema descrito. Entre las recomendaciones más importantes de este trabajo que se han introducido están las siguientes [QUEVAUVILLER y col., 1997; QUEVAUVILLER, 1998b]:

- Las disoluciones de calibración deben hacerse con las disoluciones extractantes empleadas en cada paso de extracción.
- Con cada lote de extractos, una muestra blanco (es decir un recipiente sin sedimento) será tratada con el procedimiento completo.
- El sedimento debe estar continuamente en suspensión durante la extracción. Si esto no ocurre, la velocidad de agitación debe adaptarse para asegurar una suspensión continua de la mezcla.

La muestra de referencia CRM 601 ha sido empleada con posterioridad en un estudio sistemático interlaboratorios realizado para perfeccionar el procedimiento de extracción BCR. En este estudio se hacen una serie de

recomendaciones acerca de las distintas variables identificadas como fuentes potenciales de incertidumbre, las cuales se recogen en diferentes trabajos publicados recientemente [LÓPEZ-SÁNCHEZ y col., 1998; RAURET y col., 1999; SAHUQUILLO y col., 1999]. Una de las recomendaciones que se presenta es la siguiente: Como control interno del procedimiento, se recomienda que el residuo del paso 3° se digiera en agua regia y la cantidad total de metal extraída (suma de la fase 1 + fase 2 + fase 3 + residuo) se compare con el resultado de la digestión con agua regia de una muestra separada de 1 g del sedimento original. El residuo del paso 3° debe transferirse a un recipiente de digestión adecuado con aproximadamente 3 mL de agua y debe digerirse siguiendo el protocolo ISO-11466 [ISO, 1994]. El mismo procedimiento debe usarse para la digestión con agua regia del sedimento original.

A tenor de estos resultados Pueyo describe la preparación del material de referencia de sedimento BCR-701, preparada a partir de muestras de sedimento recogidas en el lago Orta en Italia [PUEYO y col., 2001]. En este trabajo se recogen todas las recomendaciones elaboradas en los trabajos precedentes, tanto para la aplicación del protocolo de extracción secuencial BCR como para la norma ISO-11466 [ISO, 1994], presentándose los respectivos procedimientos.

Como resultado del trabajo sistemático llevado a cabo por los integrantes del “Measurements and Testing Programme” el método de extracción secuencial en tres etapas, conocido como “BCR”, se ha ido estableciendo como método de referencia internacional, y será el que se aplique en esta tesis.

En la **Tabla I.8.** se muestran las principales temáticas abordadas en las publicaciones de los últimos seis años relacionadas con esta metodología. Entre ellas se encuentra la aplicación del método de extracción a gran variedad de sedimentos entre los que se encuentran sedimentos de ríos, estuarios, bahías, sedimentos costeros e incluso sedimentos del Antártico y suelos. El método se ha aplicado también en ejercicios de certificación y en la validación de muestras certificadas de sedimentos y suelos. Se han realizado también estudios de comparación del método BCR con métodos de extracción simple, con métodos de extracción simple asistidos por microondas y ultrasonidos, con métodos directos de análisis de muestras sólidas usando la

Espectroscopía de Absorción Atómica con Horno de Grafito (SS-GFAAS), y también se ha comparado con otros métodos estandarizados de fraccionamiento como el de “USEPA Standard 3030B” o “ISO Standard 11466”. En algunos estudios se ha modificado el método desarrollando métodos de extracción alternativos, sustituyendo la agitación por el uso de baño ultrasónico u hornos microondas.

**TABLA I.8.** Bibliografía relacionada con el método de extracción secuencial “BCR”.

| PROTOCOLO BCR | MATRIZ    | ELEMENTO                                       | OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS | REFERENCIA               |
|---------------|-----------|--|----------------------------|--------------------------|
| Aplicación    | Sedimento | Cd, Pb y Zn                                    | Por agitación              | [SVETE, 2001]            |
|               |           | Cr, Fe, Mn y Zn                                |                            | [BRAYNER, 2001]          |
|               |           | Cu, Fe, Mn, Pb y Zn                            |                            | [TUZEN, 2003]            |
|               |           | Hg   |                            | [SAHUQUILLO, 2003a]      |
|               |           | Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sn, V y Zn |                            | [CHUN-GANG, 2004]        |
|               |           | Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn                         |                            | [ELASS, 2004]            |
|               |           | Cd, Cr, Ni, Pb, y Zn                           |                            | [BECCALONI, 2004]        |
|               |           | Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn                        |                            | [WANG, 2004]             |
|               |           | Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn            |                            | [KARTAL, 2006]           |
|               |           | Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn                        |                            | [COUNG, 2006]            |
|               |           | Pb y Zn  |                            | [CAPPUYNS, 2007]         |
|               |           | Cd, Cu, Fe, Pb, Sn y Zn                        |                            | [LARNER, 2007]           |
|               |           | Cu, Cr, Pb y Zn                                |                            | [GUVEN, 2008]            |
|               |           | Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn                        |                            | [ARAIN, 2008a]           |
|               |           | Zn, Pb y As                                    |                            | [MARTÍNEZ SÁNCHEZ, 2008] |
|               | Suelo     | Cd, Pb y Zn                                    |                            | [PUTISEK, 2001]          |
|               |           | Al, As, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn            |                            | [KUBOVÁ, 2008]           |

**TABLA I.8 (cont.).** Bibliografía relacionada con el método de extracción secuencial "BCR".

| PROTOCOLO BCR | MATRIZ            | ELEMENTO  | OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS                 | REFERENCIA             |
|---------------|-------------------|---|--|------------------------|
| Comparación   | Sedimento         | Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn                 | Por agitación                              | [TOKALIOGLU, 2000]     |
|               |                   | Cd, Cr, Cu, Ni y Pb                                 |  | [FILGUEIRAS, 2002]     |
|               |                   | As  |  | [SAHUQUILLO, 2003b]    |
|               |                   | Cd, Cu, Pb y Zn                                     |  | [GISMERA, 2004]        |
|               |                   | Cd, Cu, Ni, Pb y Zn                                 |  | [CRABA, 2004]          |
|               |                   | Cu, Ni, Pb y Zn                                     |  | [JOKSIC, 2005]         |
|               |                   | As, Al, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb y Zn     |  | [LARNER, 2006]         |
|               |                   | Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn                         |  | [COOK, 2006]           |
|               |                   | Pb y Cd   |  | [PEREZ, 2007]          |
|               |                   | Cd, Sn, Sb, Pb, Al, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y As |  | [LARNER, 2008]         |
|               |                   | Cd, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn                             |  | [ARAIN, 2008b]         |
|               |                   | Cd, Ni, Cr, Zn y Pb                                 |  | [CICERI, 2008]         |
|               | Sedimento y suelo | Cu, Fe, Pb, Mn y Zn                                 |  | [MOSSOP, 2003]         |
|               |                   | Ca, Cu, Fe, Mn y Zn                                 |  | [DAVIDSON, 2004]       |
| Modificación  | Sedimento         | Cd, Cr, Cu, Ni y Zn                                 | Con baño ultrasónico y horno de microondas | [IPOLYI, 2002]         |
|               |                   | Pb  | Con baño ultrasónico                       | [PING, 2004]           |
|               |                   | Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn                             | Por agitación                              | [LIHAREVA, 2006]       |
| Validación    | Sedimento         | Cd, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn                             | Por agitación                              | [SAHUQUILLO, 2000]     |
|               |                   | Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn                             |  | [PUEYO, 2001]          |
|               |                   | Cd y Pb   |  | [OSS-GIACOMELLI, 2002] |
|               | Sedimento y suelo | Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn                             |  | [RAURET, 2001]         |
|               |                   | Al, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn                             |  | [SUTHERLAND, 2002]     |

### I.3.3. ESPECIACIÓN Y BIODISPONIBILIDAD

En el pasado la importancia de las sustancias tóxicas, en particular de los metales pesados en el medioambiente estaba directamente relacionada con la concentración total en agua, aire y suelos. Sin embargo se sabe desde hace tiempo que la concentración total de un metal no es un buen indicador de sus efectos en el medioambiente y la biota [CALACE y col., 2006], gracias a los experimentos de laboratorio en los que se han examinado los efectos sobre los organismos frente a unas exposiciones particulares, así como a los estudios de campo en los que se han comparado las concentraciones en el medioambiente y en los organismos. Estos experimentos han desvelado que los metales pesados actúan sobre los organismos no solo en función de su concentración, sino que existen también otra gran variedad de factores que influyen sobre sus efectos. Entre estos factores se incluyen la biodisponibilidad y una serie de características intrínsecas a la naturaleza del propio organismo (familia y especie a la que pertenece, género, edad, susceptibilidad etc.).

En los ecosistemas acuáticos se emplean frecuentemente ciertos términos que permiten describir la conducta de los contaminantes en relación con los sistemas biológicos acuáticos, entre los que se encuentran la biodisponibilidad [GRAY, 2002].

Estos términos se definen como [NORDBERG y col., 2009]:

- ❖ **Bioacumulación:** “Aumento progresivo de la cantidad de sustancia en un organismo o parte de él, como consecuencia de que el ritmo de absorción supera la capacidad del organismo para eliminar la sustancia”.
- ❖ **Biomagnificación:** “Secuencia de procesos que conducen a aumentar la concentración de una sustancia en un organismo con respecto a la del medio que se lo ha aportado”. Se suele aplicar a los ecosistemas más que a los individuos.
- ❖ **Bioconcentración:** “Proceso por el cual una sustancia alcanza en un organismo una concentración más alta que la que tiene en el ambiente a que está expuesto”.
- ❖ **Biodisponibilidad:** “Grado de absorción de una sustancia por un organismo vivo”.

En el caso de los metales la **bioacumulación** hace referencia al balance entre la cantidad de metal incorporado a los seres vivos y la cantidad que éstos son capaces de eliminar de su propio organismo. Como consecuencia de dicho balance se puede producir un aumento o una disminución neta del contenido metálico en el organismo. Este término tiene en cuenta el hecho de que aunque la dosis puntual de metales pesados esté por debajo de valores que puedan producir efectos adversos sobre los organismos, sin embargo, la continua acumulación en situaciones en las que el balance metálico ingreso/excreción sea positivo puede hacer que los niveles de los metales pesados en el organismo se incrementen con el tiempo hasta valores en los que se manifiesten efectos adversos. De forma genérica, la bioacumulación de metales pesados en organismos acuáticos aumenta bajo determinadas circunstancias, entre las que destacan el menor peso corporal (estadios larvarios y juveniles), menor salinidad, mayor temperatura del agua, ausencia de metales competidores (alcalinos y alcalinotérreos) y mayor proximidad a la superficie del agua [CROMPTON, 1997]. Puesto que las concentraciones de metales pesados en las zonas costeras, bahías y estuarios son notablemente mayores a las que se encuentran en aguas oceánicas, el riesgo es consecuentemente mayor. En ciertos casos, las consecuencias han sido tan graves que ha sido fácil establecer las relaciones causa-efecto, lo que facilita la identificación del problema y el establecimiento de las acciones correctoras oportunas. Aunque las concentraciones de metales pesados en la mayoría de los sistemas costeros y de estuario suelen encontrarse por debajo de niveles en los que se han comprobado sus efectos tóxicos y letales sobre los organismos acuáticos, en ensayos de laboratorio se han encontrado indicios de efectos a medio-largo plazo de metales pesados sobre los organismos vivos a concentraciones subletales por efecto, principalmente, de fenómenos de bioacumulación.

La **biomagnificación** se produce por el incremento en la concentración de un contaminante en los organismos a medida que asciende en su posición en la cadena trófica. Así, la cantidad de metal retenida por un organismo es asimilada directamente por su depredador, que a su vez puede servir de alimento a otro organismo situado en un nivel superior de la cadena trófica, con el consiguiente incremento en la cantidad de metal acumulado por este último. Es difícil documentar los posibles casos de biomagnificación debido a los inconvenientes que se tienen para disponer de todos los organismos que componen la dieta del predador en la cadena trófica de un



ecosistema en particular, y además es difícil correlacionar diferentes especies situadas a distintos niveles con un sistema idéntico de captación del contaminante, una distinta exposición (longevidad) y diferente fisiología (destoxificación). Solo algunos casos, con metales como Hg (Canadá) y As (Alemania), han podido señalarse como verdaderos procesos de biomagnificación [DESGRANGES y col., 1998].

El término **bioconcentración** tiene en consideración la relación existente entre la incorporación de metales al organismo vivo y el medio abiótico en el que habita; este parámetro es más fácil de determinar que el de bioacumulación. El grado en el cual un metal se concentra en un organismo acuático viene dado por el *factor de enriquecimiento* (FE), que se define como el cociente entre la concentración de metal en el material biogénico y la concentración del metal en el agua [FERNÁNDEZ y CARBALLEIRA, 2001]. Es de destacar que el fitoplancton y zooplancton, base fundamental de la cadena trófica en los sistemas acuáticos, presentan unos factores de enriquecimiento notables para ciertos elementos. Otros organismos que sobresalen son los moluscos por sus altos niveles de enriquecimiento; los peces también acumulan metales, aunque con factores de enriquecimiento notablemente menores a los anteriores organismos [KENNISH, 1996]. Así, cada vez cobra más importancia la evaluación de la acumulación de metales pesados en organismos acuáticos a través del análisis químico del contenido metálico en sus tejidos, con la doble intención de investigar la distribución y comportamiento de los metales en relación con la biota acuática, además de preservar tanto las especies animales como la salud humana, puesto que muchos de estos organismos sirven de alimento.

Se define **biodisponibilidad** como la afinidad de un contaminante para ser absorbido o adsorbido por un organismo vivo, atravesando las barreras biológicas (membranas celulares o epitelios compuestos por una doble membrana lipídica con moléculas proteicas y canales cargados electroquímicamente), mediante procesos biológicos activos o procesos pasivos de tipo físico o químico. No obstante, algunos científicos diferencian entre disponibilidad externa o “bioaccesibilidad” y “biodisponibilidad interna” [CAUSSY y col., 2003; PEIJNENBURG y col., 2003], considerándose una sustancia bioaccesible aquella que puede entrar en contacto con el organismo y ser absorbidas, y las sustancias biodisponibles son aquellas que tras ser absorbidas por el organismo pueden interactuar con las moléculas u

órganos diana. Factores fisicoquímicos como la temperatura, la salinidad, la presencia o ausencia de agentes complejantes, la presencia o ausencia de otros metales y factores propios de los organismos, como el grado de impermeabilidad superficial, la etapa nutricional, etc., entre otros, determinan la biodisponibilidad de los metales hacia los organismos. En cualquier caso, la biodisponibilidad de los metales va a estar íntimamente ligada y va a depender de su especiación química.

En general se considera que las especies metálicas más biodisponibles son las disueltas, y sobre esta base se han desarrollado en los últimos 20 años modelos de equilibrio (como el modelo de la actividad del ión libre (FIAM), el modelo del ligando biótico (BLM) o el modelo húmico acuoso de Windermere (WHAM)) para describir la biodisponibilidad de los metales en los sistemas ambientales, a pesar de que éstos son siempre dinámicos y rara vez están en equilibrio [WORMS y col., 2006]. Estos modelos se basan en la premisa que la bioacumulación de los contaminantes no es más que la consecuencia de los equilibrios termodinámicos entre las especies presentes en disolución en el medio y en los tejidos de las plantas y los microorganismos. Este equilibrio se establece por difusión pasiva, y cualquier proceso de regulación interna puede provocar desviaciones del equilibrio. Estos modelos implican que a partir de estos equilibrios, controlando los niveles de contaminantes en disolución, se puede predecir en base a los equilibrios de partición las concentraciones en los microorganismos. Estos modelos de equilibrio presentan deficiencias para explicar la biodisponibilidad de los metales en los ecosistemas, pues no tienen en cuenta procesos que pueden reducir las concentraciones biodisponibles de metal, como pueden ser los efectos de competencia de las especies, las reacciones de complejación, la complejidad existente en los procesos de transferencia a través de la membrana biológica (pueden existir varios lugares de transporte para una misma especie así como un único sitio de transporte para varias especies) y finalmente hay que considerar que los organismos disponen de múltiples estrategias para asimilar o eliminar el metal [WORMS y col., 2006].

#### ***I.4. CARACTER ESENCIAL Y TOXICIDAD DE LOS METALES PESADOS EN LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS***

---

Los metales pesados son constituyentes naturales de la corteza terrestre. Como no pueden degradarse ni destruirse son contaminantes estables y persistentes del medio ambiente, a diferencia de otras sustancias tóxicas. Además las actividades humanas han modificado drásticamente los ciclos biogeoquímicos de algunos metales pesados pudiendo influir en sus efectos tóxicos potenciales en, al menos, dos formas principales: en primer lugar, por las aportaciones antropogénicas (en calidad y cantidad) al agua, suelo, aire y alimentos, y, en segundo lugar, alterando la especiación o forma química de los elementos.

El efecto de los metales pesados sobre los organismos vivos no solo depende de la concentración en la que se encuentren presentes, sino también de otros factores tanto intrínsecos a la naturaleza del propio organismo (familia y especie a la que pertenece, mecanismos de regulación de metales, edad, estrés, etc.) como a las características del hábitat, al tiempo al que hayan estado expuestos al metal (efectos agudos o crónicos) y el grado de accesibilidad de éstos por parte de los organismos vivos. En la **Tabla I.9** se resumen los factores más característicos.

En la **Figura I.18**, se ha recogido de manera general una clasificación de la toxicidad de los elementos para los organismos vivos, que tiene en cuenta no solo su naturaleza, sino también sus posibilidades de bioacumulación en los organismos [JURADO-GONZÁLEZ, 2003].



En relación con la toxicidad de metales han de tenerse en cuenta tanto aquellos considerados como metales esenciales, como los no esenciales, ya que, en exceso, incluso los primeros pueden llegar a ser tóxicos. La mayoría de los metales afectan a sistemas múltiples, interfiriendo procesos bioquímicos específicos (enzimas) y/o membranas celulares u orgánulos. El efecto tóxico del metal normalmente supone una interacción entre el ion metálico libre y su diana. En general, los mecanismos de acción tóxica de los metales se pueden agrupar en:

1. Agregación a centros donde los metales no se unen normalmente.
2. Sustitución de elementos esenciales, particularmente en los sitios activos de las enzimas.
3. Unión que cambia la conformación y reactividad de las enzimas.
4. Reemplazo de unos grupos (fosfato) por otros (arsenato) con dimensiones similares.
5. Precipitación por formación de compuestos insolubles (fosfatos, sulfuros).
6. Alteración de la permeabilidad de las membranas por combinación de los metales con diversos grupos.
7. Cambio de elementos con papel electroquímico similar, tales como potasio y talio.

Normalmente, la toxicidad de un metal en organismos del medio acuático, como peces, invertebrados, algas o bacterias se evalúa mediante ensayos de toxicidad, en los cuales dichos organismos se someten a una exposición, bajo condiciones estándares, a distintas concentraciones de metales durante un cierto periodo de tiempo, transcurrido el cual se comprueba el efecto producido sobre los organismos. A partir de los resultados obtenidos se definen unos índices, que permiten evaluar el alcance de los efectos de la exposición al metal en función de su concentración.

En las **Tablas I.10** y **I.11** se recogen las concentraciones en agua de algunos metales por encima de las cuales diversos organismos acuáticos no sobreviven a una exposición aguda de corta duración, en condiciones de agua dulce y salada, respectivamente. Como se aprecia, los niveles dependen del metal de que se trate, el tipo de organismo y las condiciones de salinidad, entre otros factores. Entre los organismos más sensibles se encuentran los

moluscos bivalvos, ya que estos organismos filtran el agua, lo que facilita la retención de metales, tales como Cu y Cd.

**TABLA I.10.** Toxicidad de metales pesados disueltos sobre peces e invertebrados, para una exposición de corta duración (4-14 días) en agua dulce [CROMPTON, 1997].

| ORGANISMO    | CONCENTRACIÓN A LA CUAL LOS ORGANISMOS NO SOBREVIVEN ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) |      |      |       |        |     |        |
|--------------|--|------|------|-------|--------|-----|--------|
|              | Hg   | Cu   | Cd   | Zn    | Pb     | Cr  | Ni     |
| Anélidos     | >100   | >100 | >100 | >1000 | >10000 | -   | >1000  |
| Moluscos     | -  | >10  | -    | -     | -      | -   | -      |
| Crustáceos   | >0,1   | >1   | >0,1 | >10   | >10    | -   | >10    |
| Rotíferos    | -  | >100 | -    | -     | >10000 | -   | -      |
| Gasterópodos | -  | >10  | >10  | -     | >10    | -   | >10000 |
| Peces        | >100   | >100 | >10  | >1000 | >10    | >10 | >100   |

**TABLA I.11.** Toxicidad de metales pesados disueltos sobre peces e invertebrados, para una exposición de corta duración (4-14 días) en agua marina [CROMPTON, 1997].

| ORGANISMO         | CONCENTRACIÓN A LA CUAL LOS ORGANISMOS NO SOBREVIVEN ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) |     |       |       |       |        |        |
|-------------------|--|-----|-------|-------|-------|--------|--------|
|                   | Hg   | Cu  | Cd    | Zn    | Pb    | Cr     | Ni     |
| Anélidos          | >100   | >10 | >1000 | >1000 | >100  | >100   | >10000 |
| Moluscos bivalvos | >0,1   | >1  | >1    | >10   | >1000 | >10000 | >10000 |
| Crustáceos        | >10  | >10 | >10   | >100  | >1000 | >1000  | >100   |
| Equinodermos      | -  | >10 | -     | >1000 | >1000 | >10000 | >10    |
| Gasterópodos      | -  | >10 | -     | -     | >100  | -      | >10000 |
| Peces             | >10  | >10 | >100  | >1000 | >1000 | >10000 | >100   |

Estos ensayos de toxicidad se realizan en el laboratorio bajo condiciones controladas, por lo que suelen ser poco representativos de las condiciones reales en las que se encuentran estos organismos en el medio natural, tanto en lo referente a las concentraciones de agentes potencialmente tóxicos presentes en el agua como a su periodo de exposición. Además, de esta forma no se tienen en cuenta las interacciones entre sí de los distintos contaminantes, ni las de éstos con el medio físico y químico. Es por ello que resulta más interesante abordar estudios de contaminación en ecosistemas

reales y el efecto que los metales producen en los seres vivos, teniendo en cuenta estas circunstancias.

#### **I.4.1. TOXICIDAD DE ALGUNOS METALES DE INTERÉS**

---

En esta tesis doctoral se ha realizado el estudio de los metales traza Zn, Cd, Pb, Cu y As, de gran interés medioambiental, por lo que a continuación se describen los perfiles ecotoxicológicos de cada uno de ellos.

##### **I.4.1.1. ARSÉNICO**

Las propiedades venenosas de los compuestos de As se conocen desde la antigüedad. El gas arsina ( $\text{AsH}_3$ ) es el compuesto de arsénico más tóxico, su dosis mortal es de  $250 \text{ mg m}^{-3}$  para una exposición de 30 minutos. La dosis letal ( $\text{DL}_{50}$ ) para algunos compuestos de arsénico son  $34,5 \text{ mg kg}^{-1}$  para el trióxido de arsénico,  $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$  para el arsenito sódico y de 14 a  $18 \text{ mg kg}^{-1}$  en el caso del arseniato de sodio.

El arsénico trivalente se absorbe más rápidamente que el arsénico pentavalente en los sistemas biológicos, aunque ambos estados de oxidación inhiben los procesos energéticos vinculados a las funciones de la mitocondria. Los compuestos de As(III) tienen una alta afinidad por los grupos sulfhidrilo de las proteínas provocando la desactivación de las enzimas. Por su parte los compuestos de As(V) compiten con los fosfatos en las reacciones celulares pudiendo desacoplar la fosforilación oxidativa, de modo que no se conserven los enlaces trifosfatos de alta energía de la adenosina. También se piensa que los compuestos orgánicos del As ejercen efectos tóxicos en los organismos vivos a través de su metabolización a la especie de trióxido de arsénico.

En los invertebrados acuáticos, tales como mejillones, crustáceos y moluscos, se ha demostrado que la absorción de arsénico es directamente proporcional a la concentración de As en el medio; por el contrario no parece que el arsénico se bioacumule en los peces. Los peces son capaces de retener más del 99 % del arsénico ingerido en forma orgánica. En general, el arsénico no se biomagnifica a través de la cadena alimenticia y los factores de bioconcentración observados para los organismos acuáticos son relativamente bajos, excepto en el caso de las algas [BRADL y col, 2005]. Poco se sabe acerca de los mecanismos de toxicidad del arsénico a niveles subletales en peces, sin

embargo se ha observado que bajas concentraciones de As afectan a procesos fisiológicos que están involucrados en los procesos que regulan el estrés. Así, se observa que cuando aumenta la concentración de especies nocivas de arsénico en los peces ocurre un crecimiento anormal, se reduce la capacidad de aclimatación a los cambios en la temperatura y salinidad y se observan cambios en la reproducción [BEARS y col, 2006]. Aunque se ha observado que el arsénico se acumula primero en la retina, el hígado y la piel de los peces, puede interferir con el sistema inmune de los peces suprimiendo la producción de anticuerpos y citoquinas, haciéndolos más susceptibles a las infecciones [DATTA y col, 2009].

En el caso de los mamíferos, se piensa que puede existir una barrera sangre-mamaria frente al As, como lo demuestran varios estudios independientes en los que a un grupo de vacas se le suministró varias compuestos de arsénico a través de la alimentación, sin que se observara un aumento significativo del contenido de arsénico en la leche [JONNALAGADA y RAO, 1993].

La toxicidad encontrada de los compuestos de arsénico en humanos sigue el siguiente orden, de mayor a menor toxicidad: arseninas > arsenitos inorgánicos > compuestos orgánicos trivalentes > arseniatos inorgánicos > compuestos orgánicos pentavalentes > arsénico elemental [BRADL y col., 2005]. El arsénico puede causar intoxicación aguda y crónica. Los síntomas de una intoxicación crónica de arsénico son la debilidad, la pérdida de reflejos, gastritis, colitis, anorexia, pérdida de peso y de cabello. Una exposición prolongada a través de la comida o el aire puede dar lugar a hiperqueratosis, hiperpigmentación, enfermedades cardiovasculares, alteraciones en la periferia vascular y en el sistema nervioso, trastornos circulatorios, uñas quebradizas, eccemas y daños en hígado y riñón. El arsénico se acumula en el cabello, la piel, las uñas y los huesos. Una intoxicación aguda por arsénico puede causar vómitos, sequedad en la boca y la garganta, calambres musculares, dolor abdominal, cólico, hormigueo en pies y manos, piel húmeda y fría, alucinaciones, delirios y diarrea. La muerte ocurre debido a un fallo renal antes de 24 horas, o en los días siguientes debido a fallos multiorgánicos o por ataque al corazón. El arsénico es dañino a nivel genético ya que inhibe los procesos de reparación del ADN. La absorción de arsénico por vías aéreas causa cáncer de pulmón. La ingesta por vía oral



provoca cáncer de vejiga, insuficiencia renal, cáncer de hígado y cáncer de piel [BISSEN y FRIMMEL, 2003].

El cuerpo humano puede desintoxicar una cierta cantidad de compuestos inorgánicos de As(III) y As(V) a través de la metilación. Estos compuestos metilados se excretan por la orina después de tres a cuatro días. La capacidad de metilación de los compuestos de arsénico es limitada de 400 a 500 mg por día. Aunque la sensibilidad al arsénico es diferente para cada individuo, los seres humanos que no están acostumbrados al consumo de arsénico pueden morir con una absorción de arsénico entre 0,1 y 0,3 g por día.

#### I.4.1.2. CADMIO

Aunque se haya podido considerar en algunos casos, no hay evidencia de que el cadmio sea biológicamente esencial, y por el contrario se ha comprobado que a concentraciones relativamente bajas es tóxico para prácticamente todas las formas de vida, incluyendo microorganismos, plantas, animales y el hombre.

El modo de acción del cadmio se basa en la competición con otros metales, especialmente con Zn, Fe, Cu y Ca. Así, desplaza al Zn como cofactor de ciertas reacciones enzimáticas, perturbando sus funciones normales; compite de forma activa con el Ca en los sistemas enzimáticos implicados en la contracción muscular, sobre todo a nivel de las fibras musculares lisas vasculares; y ejerce una acción competitiva con el hierro y el cobre como cofactor del sistema enzimático de las monoaminooxidasas, disminuyendo su actividad. No obstante, esta competición puede jugar un papel preventivo frente a la intoxicación. Además, presenta una gran afinidad por los grupos tiol, perturbando el metabolismo de los aminoácidos sulfurados y el funcionamiento de numerosas enzimas (ATPasas, deshidrogenasas, anhidrasa carbónica, etc.). El cadmio inhibe la fosforilación oxidativa en las mitocondrias, desacoplando las reacciones redox, también puede inhibir la  $\omega$ -oxidación de los ácidos grasos, etc. Por otra parte, este metal aumenta el catabolismo de ciertas proteínas, como la seroalbúmina y disminuye el catabolismo de proteínas reabsorbidas por las células del túbulo proximal del riñón, habiéndose comprobado la disminución de la síntesis de proteínas y

anticuerpos *in vitro*. En consecuencia, el cadmio produce alteraciones en diversos procesos metabólicos, perturbando la maquinaria energética celular.

La toxicidad del cadmio en los sistemas acuáticos está controlada por la concentración de cadmio libre, la cual a su vez está condicionada a la dureza del agua. De acuerdo con este hecho los organismos de agua dulce resultan más afectados que los de agua de mar; dentro de los organismos marinos, los más sensibles son algas y crustáceos y a su vez, dentro de los de agua dulce los salmónidos. En estudios experimentales, concentraciones de 1 mg L<sup>-1</sup> en agua dulce producen efectos tóxicos, mientras que en aguas marinas requieren concentraciones entre 10 y 20 mg L<sup>-1</sup> [REPETTO, 1995]. En cuanto a los efectos tóxicos en organismos acuáticos, la toxicidad aguda del cadmio es variable, incluso entre especies estrechamente emparentadas. El cadmio interacciona con el metabolismo del calcio provocando hipocalcemia en los peces. También se han observado efectos subletales en los peces, en particular malformaciones en la espina dorsal. Las fases biológicas más susceptibles a los efectos tóxicos de este metal son el embrión y la larva joven; los huevos son los menos vulnerables. El cinc aumenta la toxicidad del cadmio en los invertebrados acuáticos en los que se han observado efectos subletales en el crecimiento y la reproducción, así como modificaciones estructurales en las branquias [CASTAÑE y col., 2003; NORDIC COUNCIL OF MINISTER, 2003].

Los efectos teratogénicos sobre animales parecen más importantes para el cadmio que para otros metales y se han descrito numerosas malformaciones en anfibios y mamíferos. También en estudios de laboratorio se ha demostrado de forma concluyente que la inyección de cadmio provoca tumores, especialmente a nivel testicular. Numerosos estudios epidemiológicos han intentado encontrar una relación entre la exposición a cadmio y los cánceres de pulmón y próstata. Los resultados obtenidos indican que el cadmio contribuye a la formación de este tipo de cánceres, aunque es difícil separar los efectos de la exposición a cadmio de las exposiciones a arsénico, níquel y otros agentes carcinogénicos respiratorios, incluyendo el humo de tabaco, por lo que no se ha obtenido aún una conclusión definitiva.

En el hombre, la ingestión de alimentos o bebidas contaminadas con cadmio puede causar trastornos agudos en el tracto gastrointestinal. Los síntomas incluyen náuseas, salivación, vómitos, dolores de abdomen y cabeza.

En los casos más severos puede aparecer diarrea. Los síntomas que produce la inhalación de cadmio son dolor de cabeza, irritación del tracto respiratorio, escalofríos, debilidad general, insuficiencia respiratoria, fiebre, etc.; incluso puede conducir a un edema pulmonar en casos extremos. Además del tracto gastrointestinal y el pulmón, es el riñón el órgano más afectado por exposición crónica al cadmio. El cadmio es una toxina de acumulación; su rápida solvólisis en ácidos débiles constituye un prerequisite fundamental para su fácil asimilación en el organismo: en el tracto gastrointestinal se reabsorbe un 5 % del cadmio, que se deposita en el hígado y los riñones [WRIGHT y WELBOURN, 2001]. En Asia, las altas concentraciones de cadmio en el arroz, fueron las responsables de la enfermedad “*Itai-Itai*” (que literalmente quiere decir, ¡ay!, ¡ay!) que destruye los eritrocitos y produce proteinuria, rinitis, enfisema y bronquitis crónica [ISHIZAKI y FUNKUSHIMA, 1968]. Un síntoma típico de intoxicación crónica es la excreción de  $\beta$ -microglobulina en la orina debido a la disfunción renal. También puede producir deformaciones óseas [GUÍA DE PROTECCIÓN AMBIENTAL TOMO 3, 1996].

En este sentido, la UE ha indicado recientemente en 2002 que el cadmio puede acumularse en el cuerpo humano y provocar afecciones renales, alteraciones óseas y fallos del aparato reproductor. No puede descartarse que actúe como carcinógeno. Así, se ha recomendado que se realicen mayores esfuerzos para reducir la exposición al cadmio en la dieta, puesto que los productos alimenticios son la principal fuente de ingestión humana de cadmio. Por consiguiente, deben fijarse contenidos máximos lo más bajo que sea razonablemente posible.

#### I.4.1.3. COBRE

Al igual que el Zn, es un oligoelemento esencial para la bioesfera. La esencialidad del cobre se manifiesta en que es un elemento prostético de numerosas enzimas y puede servir como cofactor para la activación enzimática (participa en la formación de más de 30 enzimas), sobre todo de las enzimas asociadas con el metabolismo oxidativo. Puede unirse también a proteínas, tales como la citocromo oxidasa [CHANG, 1996]. La deficiencia de Cu se asocia con la hemoglobina y elastina reducidas y la teratogénesis y actividad anormal de la amino oxidasa; además, afecta al metabolismo de los hidratos de carbono y a la biosíntesis de la catecolamina. En exceso el Cu

puede unirse a ligandos no específicos de los iones metálicos, ocupando así espacios celulares o receptores cuya función es bloqueada por su presencia.

El mayor impacto medioambiental del Cu ocurre en los ecosistemas acuáticos. En general los peces y crustáceos son del orden de 10 a 100 veces más sensibles al Cu que los mamíferos, y las algas son 1000 veces más sensibles [WRIGHT y WELBOURN, 2001]. Algunos animales marinos filtradores, como las ostras, pueden llegar a tener una riqueza excepcional en los tejidos (hasta 60 mg/kg peso fresco).

En los sistemas acuáticos se ha observado que la toxicidad del Cu aumenta cuando disminuye la dureza del agua y el oxígeno disuelto, decrece en presencia de agentes quelatantes, ácidos húmicos, aminoácidos y sólidos en suspensión esenciales para atrapar metales [ARMENDÁRIZ SÁENZ y col., 2008]. En peces se han descrito lesiones morfológicas en los órganos sensoriales inducidas por Cu, como por ejemplo desintegración celular en las papilas gustativas de peces de colores, así como lesiones en los órganos olfativos y las células receptoras de la línea lateral en los teleósteos, también se observan cambios en las córneas lo que sugiere un trastorno del sistema visual. Además, este metal afecta a la actividad colinesterasa de los peces en el cerebro y músculo, disminuyendo su actividad y provocando un aumento en el contenido de acetilcolina en las terminaciones nerviosas interrumpiendo la transmisión del impulso nervioso [BAATRUP, 1990]. Otros efectos negativos debido a un exceso de cobre son el estrés oxidativo y efectos nocivos sobre los órganos osmoregulatorios, branquias, como por ejemplo la inhibición del transporte de iones sodio debido a la inhibición de la enzima  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPasa}$  en peces y la inhibición de la anhidrasa carbónica en los crustáceos [GROSELL y col., 2004].

En los mamíferos raramente se observa la toxicidad del Cu, ya que la mayoría tolera altas concentraciones de Cu en su dieta. Estos animales tienen un eficiente sistema fisiológico que destoxifica el Cu por la piel y los riñones [WRIGHT y WELBOURN, 2001].

En humanos la intoxicación se produce fundamentalmente por inhalación de polvos y "humos" de cobre provocando hemorragia nasal y de las mucosas, pudiendo conducir a la perforación del tabique nasal. Las intoxicaciones por ingesta son raras, dado que produce vómitos. La toxicidad

de esta sustancia se basa en el enlace de los iones de cobre libres a ciertas proteínas, lo que afecta sus funciones fisiológicas, funciones de las membranas, proteínas citosólicas y orgánulos subcelulares. Los niños menores están mucho más expuestos (peligro de muerte) cuando hay un alto contenido de cobre en el agua potable. La muerte se presenta por cirrosis hepática. Sus compuestos organometálicos no tienen siempre el mismo umbral de toxicidad que el acuocación. La toxicidad crónica se ha estudiado en individuos con el síndrome de Wilson, un fallo genético del metabolismo que se encuentra en 1 de cada 200000 individuos, que proviene de la acumulación de cobre en el hígado, cerebro, riñón y córnea.

No hay datos concluyentes sobre la carcinogénesis del Cu en el hombre, ya que la evidencia experimental obtenida con animales de laboratorio no es apropiada. Además, los estudios de mutagénesis que se han publicado son contradictorios por lo que tampoco se ha hecho una evaluación de la mutagenicidad de este elemento.

#### I.4.1.4. PLOMO

Es el metal tóxico más extendido y es destacable su presencia en casi todos los compartimentos ambientales. El envenenamiento subletal por plomo en vertebrados se caracteriza por la aparición de fallos neurológicos, disfunción del riñón y anemia. Éste bloquea la transmisión del impulso nervioso y la liberación de la acetilcolina. La anemia se produce como resultado de dos efectos básicos: disminución de la longevidad de los glóbulos rojos y la inhibición de numerosas enzimas que intervienen en la síntesis de hemoglobina. En este sentido, también provoca la inhibición del metabolismo de los nucleótidos de pirimidina, que causa una acumulación de Pb en los glóbulos rojos, así como efectos en el metabolismo del triptófano bloqueando una de sus vías metabólicas. Asimismo, induce la inhibición en la síntesis de proteínas y la reducción reversible del ADN y ARN en cultivos celulares. Se han descrito efectos sobre diversas enzimas, como la disminución de la actividad de la ATPasa a nivel de la membrana de los hematíes, riñón e hígado y se ha reseñado un marcado aumento de enzimas en el suero acompañando a lesiones hepáticas. Por último, cabe destacar la gran afinidad del plomo por las mitocondrias, donde inhibe la fosforilación oxidativa [FERRER, 2003].

En ecosistemas dulceacuícolas, se han señalado distintos efectos del plomo. Los peces presentan ennegrecimiento de las aletas y curvatura espinal; ambos procesos normalmente son reversibles, excepto en casos muy agudos. También se ha podido demostrar una disminución de la toxicidad del plomo al aumentar la dureza del agua en éstos. No obstante, el grupo más sensible de los invertebrados de agua dulce son los crustáceos, pero no se ha podido demostrar el efecto de la dureza del agua. En ecosistemas marinos los datos son confusos debido a la relativa insolubilidad de los compuestos de plomo; esto ha dado lugar a la descripción de efectos adversos muy variados y en algunos casos opuestos [CROMPTON, 1997].

En el hombre, el plomo puede incorporarse por inhalación de polvos o por consumo de alimentos que contienen plomo o, en el caso de los vegetales, a través de sales de plomo solubles contenidas en el suelo. Si bien la inhalación es la vía de entrada más importante para las personas expuestas en razón de su profesión, el común de la población lo incorpora al organismo a través de la ingesta y resorción en el tracto gastrointestinal. Igualmente el plomo puede ser ingerido por el cuerpo humano en notables cantidades a través del consumo de agua potable (cañerías de plomo) [GUÍA DE PROTECCIÓN MEDIOAMBIENTAL TOMO 3, 1996].

Los compuestos inorgánicos del plomo son adsorbidos en el tracto gastrointestinal, siendo más fácil para los niños que para los adultos (DVGW, 1985). Un 90% del plomo resorbido se liga a los eritrocitos y de este modo se distribuye por todo el cuerpo. Se deposita fundamentalmente en los huesos. Aproximadamente el 90% del plomo ingerido se vuelve a eliminar, un 75-80% del plomo eliminado lo hace por vía renal. Parte del Pb se deposita en el pelo y en las uñas, mientras que otra parte se exuda con la transpiración o se acumula en la leche materna. Los efectos más comunes de la intoxicación por plomo orgánico se dan sobre el sistema hematopoyético (formador de células sanguíneas), especialmente en personas expuestas laboralmente y se presentan principalmente como una intoxicación crónica [GUÍA DE PROTECCIÓN MEDIOAMBIENTAL TOMO 3, 1996].

Se producen efectos nocivos al absorber durante un tiempo prolongado incluso cantidades inferiores a 1 mg/día. Signos de intoxicación crónica son los depósitos de plomo en el borde de las encías, cólicos y espasmos; apatía, irritabilidad, insomnio y, en algunos casos, perturbaciones del

comportamiento en los niños indican una afección del sistema nervioso. El plomo pasa por la placenta y se acumula en el feto. En Alemania el plomo se encuadra en el grupo de sustancias con factor de riesgo "B" para el embarazo (se considera que hay riesgo de daño para el feto). Se estima que el límite superior del nivel de plomo en sangre con el que todavía no se ve afectada la salud, es de 35 mg Pb/100 mL de sangre para los adultos y de 30 mg Pb/100 mL para niños y mujeres embarazadas. La OMS (Organización Mundial de la Salud) aplica un valor límite de 100 mg Pb/100 mL de sangre, valor que en la mayoría de los países es considerablemente más bajo [GUÍA DE PROTECCIÓN MEDIOAMBIENTAL TOMO 3, 1996].

La UE ha indicado en 2001 que la absorción de plomo puede constituir un grave riesgo para la salud pública. El plomo puede provocar un retraso del desarrollo mental e intelectual de los niños y causar hipertensión y enfermedades cardiovasculares en los adultos. En los últimos diez años, los contenidos de plomo de los productos alimenticios se redujeron sensiblemente porque aumentó la sensibilización ante el problema sanitario que puede representar el plomo, por los esfuerzos realizados para reducir la emisión de plomo en su origen y por los progresos en la garantía de calidad de los análisis químicos alimentarios. Así, se considera que actualmente el contenido medio de plomo en los alimentos no parece ser causa de alarma, pero debe de proseguir la acción a largo plazo con el objetivo de continuar reduciendo los contenidos medios de plomo en los productos alimenticios. Por consiguiente, los contenidos máximos permitidos deben ser lo más bajos posible [Reglamento (CE) N° 466/2001].

#### I.4.1.5. CINC

El Zn es un oligoelemento esencial de la biosfera. La esenciabilidad de este metal se muestra en su actuación en un gran número de funciones fisiológicas, derivadas de su presencia como cofactor en más de 200 enzimas, lo que provoca que sus niveles en los tejidos animales sean muy similares.

La deficiencia severa de Zn durante la gestación provoca un efecto teratogénico en diversas especies animales (ratas, ovejas, pollos,...), que se manifiesta en anormalidades fetales y neonatales en forma tanto de malformaciones estructurales en cerebro, ojos, pulmón y corazón, así como funcionales en páncreas, pulmón y sistema inmunitario. El origen de estos

efectos es atribuible a la alteración del metabolismo de los ácidos nucleicos, a daños oxidativos en proteínas y ADN, y a un aumento en la peroxidación lipídica en tejidos fetales. Además, la carencia de este metal durante espacios de tiempo relativamente cortos también puede dar lugar a efectos adversos como, por ejemplo, problemas de fertilidad durante periodos reproductivos. Asimismo, se han descrito lesiones bioquímicas y morfológicas como consecuencia de la deficiencia de este metal esencial para el funcionamiento de más de 150 factores de transcripción [BAIRD, 2001]. Al parecer, se ha demostrado que el Zn es clastogénico (produce ruptura de los cromosomas), *in vivo* e *in vitro*, tanto por inyección como por inhalación.

Se ha constatado que la toxicidad aguda por Zn, que se da a partir de altas entradas en el organismo, produce en los humanos dolor epigástrico, diarreas, náuseas y vómitos. En los animales superiores no se ha asociado con ningún modelo de desarrollo de anormalidades. No obstante, cuando los linfocitos humanos son tratados con sales de Zn se observan aberraciones cromosómicas estructurales en los mismos.

La toxicidad crónica se ha estudiado en animales por medio del consumo a largo plazo de suplementos de Zn superiores a 150 mg/día, dando como resultado principal la deficiencia de forma paralela de Cu. También, se ha demostrado que a bajas concentraciones de este elemento se induce una respuesta de tipo estresante en las células embrionarias de pollo y de *Drosophila*.

Su presencia en aguas de consumo indica lixiviación del mismo a partir de las tuberías galvanizadas de distribución de aguas. Sin ser tóxico a dosis altas, pero teniendo en cuenta que suele estar asociado al Cd (elemento muy tóxico) su incremento en un acuífero puede informar sobre una potencial presencia indeseable de este último en el agua [MARÍN GALVÍN, 1996].

La toxicidad del cinc en los organismos acuáticos es mayor para valores de pH bajos, poco contenido de oxígeno disuelto y temperaturas elevadas. En estas condiciones se producen daños en las células epiteliales de las branquias que pueden llegar a ocasionar la muerte. A nivel bioquímico la intoxicación por Zn provoca una disminución significativa en el contenido de glucógeno, proteína y lípidos en los tejidos, unido a la disminución del valor calorífico afectando al valor nutritivo de los peces siendo el hígado el tejido



que se ve más afectado. Esta disminución en el contenido calorífico causada por la exposición a Zn provoca un aumento de la tasa metabólica de los peces [MALIK y SASTRI, 1998; PALANIAPPAN y RENJU, 2009].

## ***I.5. LEGISLACIÓN AMBIENTAL***

---

La protección del Medio Ambiente se ha convertido en una preocupación generalizada y en una exigencia de las sociedades avanzadas. En las últimas décadas ha ido apareciendo una “*conciencia del medio ambiente*” motivada por un empeoramiento de la calidad ambiental, que en la antigüedad solo aparecía en casos excepcionales, y que actualmente ha tomado dimensiones tan alarmantes que, no solo ha acaparado la atención de las instituciones competentes, sino también la de la opinión pública. En este sentido, es de destacar que la década de los 90 fue denominada por los organismos internacionales la “*Década del Medio Ambiente*”.

En España, las exigencias de incorporación a la Unión Europea en 1985 favorecieron el desarrollo de una política ambiental, asumiendo las directivas comunitarias sobre la protección de la calidad de aguas superficiales que han sido de aplicación inmediata desde el momento de su adhesión, fecha en la que entró en vigor la Ley de Aguas (Ley 29/1985, de 2 de agosto; BOE, 1986).

Para la protección del Medio Ambiente se han adoptado numerosas iniciativas legales de todo tipo. Las más extendidas son las disposiciones que permiten tomar medidas restrictivas y sancionadoras contra los que con sus acciones degradan la Biosfera. Aunque gran número de países han promulgado leyes, la necesidad de dedicar grandes recursos económicos es, la mayoría de las veces, la excusa para no aplicar y/o no legislar convenientemente otras iniciativas que pueden resultar incluso menos gravosas relativamente.

Es difícil, por su extensión, intentar resumir toda la normativa legal medioambiental contenida en las diversas leyes, reales decretos, decretos y

órdenes ministeriales aparecidos a lo largo de los últimos años. En las **Tablas I.12, I.13 y I.14** se detallan las normativas más importantes, en orden cronológico, según su carácter estatal, autonómico o europeo, tanto la referida al medio ambiente en general como la relativa exclusivamente a las aguas [[www.belt.es-legislación](http://www.belt.es-legislación) vigente; [www.marm.es](http://www.marm.es); [www.mma.es](http://www.mma.es); [ec.europa.eu/environment](http://ec.europa.eu/environment)].

**TABLA I.12.** Principales disposiciones estatales relacionadas con las aguas y el medio ambiente.

| NORMA                   | ASUNTO  | BOE                     |
|-------------------------|---|-------------------------|
| D 2414/1961             | Reglamento de actividades molestas, insalubres, nocivas y peligrosas  | 07/12/1961 y 07/03/1962 |
| Ley 42/1975             | Desechos y residuos peligrosos  | 19/11/1975              |
| Ley 10/1977             | Mar territorial   | 08/01/1977              |
| Ley Fundamental         | Constitución (Arts. 45, 148.1.9ª y 149.1.23ª)   | 29/12/1978              |
| LO 06/1981              | Estatuto de Andalucía (Arts. 12, 13, 15 y 17)   | 11/01/1982              |
| RD 1096/1984            | Traspaso de funciones a la Comunidad Autónoma Andaluza en materia de conservación de la naturaleza                    | 11/06/1984              |
| Ley 29/1985             | Aguas (Arts. 2-12, 38-44, 84-103, 105 y 108-112)  | 08/08/1985 y 10/10/1985 |
| RD legislativo 781/1986 | Texto refundido de las disposiciones legales vigentes en materia de régimen local                                     | 22/04/1986 y 23/04/1986 |
| Ley 14/1986             | General de sanidad (Arts. 19, 39, 40.1, 41 y 42)  | 29/04/1986              |
| Ley 20/1986             | Ley básica de residuos tóxicos y peligrosos   | 14/05/1986              |
| RD 1302/1986            | Evaluación de impacto ambiental   | 30/06/1986              |
| Ley 22/1988             | Costas (Arts. 1-6, 20-42, 44, 51-65, 72, 85, 88, 90-115, DA 8ª y DF 1º)   | 29/07/1988              |
| RD 833/1988             | Reglamento para la ejecución de la Ley 20/1986 básica de residuos tóxicos y peligrosos                                | 30/07/1988              |
| Ley 4/1989              | Conservación de los espacios naturales y de la flora y fauna silvestres   | 27/03/1989              |
| RD 24/07/1889           | Código Civil (Arts. 389-391, 1907 y 1908)   | 25/07/1889              |
| RD 1471/1989            | Reglamento General para desarrollo y ejecución de la Ley 22/1988 de Costas  | 12/12/1989 y 23/01/1990 |
| Ley 27/1992             | Puertos del Estado y Marina Mercante (Arts. 6, 21, 57, 60-62, 106 y 112-128)  | 25/11/1992 y 12/12/1992 |
| RD 224/1994             | Creación del Consejo Asesor de Medio Ambiente   | 09/03/1994              |
| RD 484/1995             | Medidas de regulación y control de vertidos   | 21/04/1995              |
| RD 28/04/1995           | Plan nacional de saneamiento y depuración de aguas residuales   | 12/05/1995              |
| RD 363/1995             | Reglamento sobre la notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas | 05/06/1995              |
| LO 10/1995              | Código Penal (Arts. 325-340)  | 24/11/1995 y 02/03/1996 |
| Ley 38/1995             | Derecho de acceso a la información en materia de medio ambiente   | 13/12/1995              |
| RD Ley 11/1995          | Se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas                                    | 30/12/1995              |
| RD 261/1996             | Protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias            | 16/02/1996              |
| RD 509/1996             | Establecimientos de normas aplicables al tratamiento de aguas residuales urbanas                                      | 29/03/1996              |
| RD 758/1996             | Reestructuración de Departamentos Ministeriales (creación del Ministerio de Medio Ambiente)                           | 06/05/1996              |
| RD 1720/1996            | Modificación del Real Decreto 224/1994, de 14 de febrero por el que se crea el Consejo Asesor de Medio Ambiente       | 09/08/1996              |

**TABLA I.12 (cont.).** Principales disposiciones estatales relacionadas con las aguas y el medio ambiente.

| NORMA              | ASUNTO   | BOE                        |
|--------------------|--|----------------------------|
| RD 177/1998        | Se crea el Consejo Nacional del Clima  | 18/02/1998                 |
| Ley 10/1998        | Sobre los residuos   | 22/04/1998                 |
| R 25/05/1998       | Declaración de “zonas sensibles” en las cuencas hidrográficas intercomunitarias  | 30/06/1998                 |
| RD 1664/1998       | Aprobación de los Planes Hidrológicos de cuenca  | 11/08/1998                 |
| Ley 46/1999        | Modificación de la ley 29/1985 de Aguas  | 14/12/1999                 |
| Ley 6/2001         | Modificación del RDL 1302/1986 de evaluación del impacto ambiental   | 09/05/2001                 |
| RD Ley 1/2001      | Aprobación del texto refundido de la Ley de Aguas  | 24/07/2001<br>30/11/2001   |
| Ley 16/2002        | Prevención y control integrados de la contaminación  | 02/07/2002                 |
| RD 553/2004        | Reestructuración de los departamentos ministeriales  | 18/04/2004 y<br>20/04/2004 |
| RD 562/2004        | Aprobación de la estructura orgánica básica de los departamentos ministeriales   | 20/14/2004                 |
| RD 2182/2004       | Creación del Centro para la prevención y lucha contra la Contaminación marítima y del litoral.   | 16/11/2004                 |
| Ley 9/2006         | Sobre evaluación de determinados planes y programas en el medio ambiente   | 29/04/2006                 |
| Ley 27/2006        | Se regulan los derechos de acceso a la información, de participación pública y de acceso a la justicia en materia de medio ambiente, incorpora las Directivas 2003/4/CE y 2003/35/CE   | 19/07/2006                 |
| RD Ley 4/2007      | Se modifica el texto refundido de la ley de aguas  | 14/04/2007                 |
| RD 509/2007        | Se aprueba el reglamento para el desarrollo y ejecución de la Ley 16/2002, de prevención y control integrados de la contaminación  | 21/04/2007                 |
| RD 543/2007        | Se determinan las normas de seguridad y prevención de la contaminación a cumplir por los buques pesqueros  | 1/06/2007                  |
| R 9/04/2007        | Convenio de colaboración entre el Ministerio de Medio Ambiente y la Junta de Andalucía, para el desarrollo de actuaciones declaradas de interés general de la nación en el ámbito de las cuencas hidrográficas intracomunitarias de Andalucía  | 25/04/2007                 |
| RD 907/2007        | Se aprueba el reglamento de la planificación hidrológica   | 7/07/2007                  |
| RD 1341/2007       | Sobre la gestión de la calidad de las aguas de baño  | 26/10/2007                 |
| Ley 26/2007        | De responsabilidad Medioambiental  | 16/11/2007                 |
| RD 1620/2007       | Se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas  | 8/12/2007                  |
| O MAM/85/2008      | Se establecen los criterios técnicos para la valoración de los daños al dominio público hidráulico y las normas de toma de muestras y análisis de vertidos de aguas residuales   | 29/01/2008                 |
| RD 1666/2008       | Traspaso de funciones y servicios de la administración del estado a la Comunidad Autónoma de Andalucía en materia de recursos y aprovechamiento hidráulicos correspondientes a las aguas de la cuenca del Guadalquivir que discurren íntegramente por el territorio de la Comunidad Autónoma | 4/11/2008                  |
| O<br>ARM/1312/2009 | Se regulan los sistemas para realizar el control efectivo de los volúmenes de agua utilizados por los aprovechamientos de agua del D.P.H. de los retornos al citado D.P.H. y de los vertidos al mismo  | 27/05/2009                 |
| RD 1514/2009       | Se regulan la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro  | 22/10/2009                 |

**TABLA 1.13.** Principales disposiciones autonómicas relacionadas con las aguas y el medio ambiente.

| NORMA         | ASUNTO   | BOJA       |
|---------------|--|------------|
| Ley 6/1984    | Creación de la Agencia de Medio Ambiente   | 09/06/1984 |
| Ley 7/1994    | Creación de normas reguladoras de la protección ambiental  | 31/05/1994 |
| Ley 2/1995    | Inventario de espacios naturales protegidos de Andalucía y medidas adicionales para su protección  | 07/06/1995 |
| D 202/1995    | Creación del Consejo Andaluz del Agua  | 08/08/1995 |
| D 283/1995    | Reglamento de residuos de la C. Autónoma de Andalucía  | 19/12/1995 |
| D 292/1995    | Reglamento de evaluación del impacto ambiental de la Comunidad Autónoma de Andalucía   | 28/12/1995 |
| D 16/1997     | Formulación del Plan Director de Infraestructuras de Andalucía 1997- 2007  | 18/02/1997 |
| D 202/1997    | Se establece la estructura orgánica básica de la Consejería  | 7/10/1997  |
| D 134/1998    | Plan de Gestión de residuos peligrosos de Andalucía  | 13/08/1998 |
| D 194/1998    | Aprobación del Reglamento sobre vigilancia higiénico sanitaria de las aguas y zonas de baño de carácter marítimo   | 27/10/1998 |
| D 54/1999     | Declaración de zonas sensibles, normales y menos sensibles   | 23/03/1999 |
| Ley 8/1999    | Espacio Natural de Doñana  | 25/11/1999 |
| O 10/11/1999  | Planes de Inspecciones en materia medioambiental   | 04/12/1999 |
| D 46/2000     | Actuaciones en relación con los riesgos de accidentes graves en los que intervengan sustancias peligrosas  | 12/02/2000 |
| O 09/02/2000  | Planes de calidad ambiental de Huelva y su entorno   | 21/03/2000 |
| R 320/10/2000 | Planes sectoriales de inspecciones medioambientales en Andalucía   | 05/12/2000 |
| D 281/2002    | Regulación de efluentes líquidos o de lodos procedentes de actividades industriales, mineras y agrarias  | 26/12/2002 |
| D 48/2004     | Plan Rector de uso y gestión del Parque Nacional de Doñana   | 04/03/2004 |
| D 99/2004     | Revisión del Plan de gestión de residuos peligrosos de Andalucía   | 01/04/2004 |
| O 15/09/2005  | Se aprueba el plan de acción medioambiental para el Campo de Gibraltar   | 23/09/2005 |
| D 241/2005    | Se crean las direcciones provinciales de la Agencia Andaluza del Agua y se establecen sus funciones  | 9/11/2005  |
| O 12/11/2005  | Se regula el régimen de autorización y control de efluentes líquidos o lodos procedentes de actividades industriales mineras y agrarias  | 24/11/2005 |
| D 204/2005    | Se declaran las zonas sensibles y normales de las aguas de transición y costeras de las cuencas hidrográficas intracomunitarias gestionadas por la Comunidad Autónoma de Andalucía | 25/11/2005 |
| Ley 7/2007    | Gestión integrada de la Calidad Ambiental  | 20/07/2007 |
| D 36/2008     | Se designan las zonas vulnerables y se establecen medidas contra la contaminación por nitratos de origen agrario   | 20/02/2008 |
| D 2/2009      | Se aprueban los estatutos de la Agencia Andaluza del Agua  | 12/02/2009 |
| R 23/02/2009  | Se delega competencias en las direcciones provinciales de la Agencia Andaluza del Agua   | 17/03/2009 |
| D 357/2009    | Se fija el ámbito territorial de las demarcaciones hidrográficas de las cuencas intracomunitarias situadas en Andalucía  | 23/10/2009 |

**TABLA I.14.** Algunas disposiciones comunitarias relacionadas con las aguas y el medio ambiente.

| NORMA                       | ASUNTO   | DOCE/DOUE  |
|-----------------------------|--|------------|
| Dir. 160/1976               | Calidad de las aguas de baño   | 08/12/1975 |
| Dir. 464/1976               | Contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas al medio acuático de la Comunidad  | 04/05/1976 |
| Dir. 769/1976               | Comercialización y uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos  | 27/09/1976 |
| Dir. 659/1978               | Calidad de las aguas continentales que requieren protección o mejora para la vida de los peces   | 18/07/1978 |
| Dir. 923/1979               | Calidad exigida en las aguas de cría de moluscos   | 30/10/1979 |
| D 338/1985                  | Información sobre la situación medioambiental y recursos comunitarios  | 27/05/1985 |
| Dir. 280/1986               | Valores límites y objetivos de calidad para los residuos de determinadas sustancias peligrosas   | 12/06/1986 |
| Dir. 182/1988               | Procedimiento de información en materia de normas y reglamentaciones técnicas  | 28/03/1988 |
| Dir. 347/1988               | Modificación del Anexo II de la Directiva 280/1986   | 16/06/1988 |
| Dir. 313/1990               | Libertad de acceso a la información en materia de medio ambiente   | 07/05/1990 |
| R 1210/1990                 | Creación de la Agencia de Medio Ambiente y la Red Europea de información y observación sobre el Medio Ambiente   | 11/05/1990 |
| Dir. 415/1990               | Modifica el Anexo II de la Directiva 280/1986  | 27/07/1990 |
| Dir. 271/1991               | Tratamiento de las aguas residuales urbanas  | 30/05/1991 |
| Dir. 338/1991               | Modificación de la Directiva 769/1976  | 18/06/1991 |
| R 138/1993                  | Programa Comunitario de política y actuación en materia de medio ambiente y desarrollo sostenible  | 17/05/1993 |
| Dir. 61/1996                | Prevención y control integrado de la contaminación   | 10/10/1996 |
| D 414/1998                  | Ratificación sobre la aplicación del Derecho del Mar, ONU 10/12/82, relativa a la conservación y ordenación de las poblaciones de peces transzonales y altamente migratorios | 08/05/1998 |
| Dir. 83/1998                | Calidad de aguas destinadas al consumo humano  | 05/12/1998 |
| R 933/1999                  | Reglamento de la Agencia de Medio Ambiente Europea   | 05/05/1999 |
| Dir. 31/1999                | Vertido de residuos  | 16/07/1999 |
| D 738/2000                  | Cuestionario para los Estados miembros de la Directiva 31/1999   | 25/11/2000 |
| Dir. 60/2000                | Establecimiento de un Marco Comunitario de actuación en el ámbito de la Política de Aguas  | 22/12/2000 |
| Decisión 2850/2000          | Directiva Marco Comunitaria de cooperación en el ámbito de contaminación marina accidental o deliberada  | 28/12/2000 |
| Recomendaciones 331/2001    | Criterios mínimos de las inspecciones medioambientales en los Estados miembros   | 27/04/2001 |
| Decisión 2455/2001          | Aprobación de la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la Política de Aguas   | 15/12/2001 |
| Dir. 4/2003                 | Acceso del público a la información ambiental y derogación de la Directiva 313/1990  | 14/02/2003 |
| Dir. 35/2004                | Responsabilidad medioambiental en relación con la prevención y reparación de daños medioambientales  | 30/04/2004 |
| Decisión Marco 2005/667/JAI | Para la represión de la contaminación procedente de buques   | 30/09/2005 |
| Dir. 35/2004                | Sobre responsabilidad medioambiental en relación con la prevención y reparación de daños medioambientales  | 30/04/2005 |
| Decisión Marco 2005/667/JAI | Para la represión de la contaminación procedente de buques   | 30/09/2005 |

**TABLA I.14 (cont.).** Algunas disposiciones comunitarias relacionadas con las aguas y el medio ambiente.

| NORMA         | ASUNTO  | DOCE/DOUE  |
|---------------|---|------------|
| Dir. 35/2004  | Sobre responsabilidad medioambiental en relación con la prevención y reparación de daños medioambientales                     | 30/04/2005 |
| Dir.11/2006   | Relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad      | 4/03/2006  |
| Dir. 118/2006 | Relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro                                     | 27/12/2006 |
| D 32/2008     | Modifica la Directiva 60/2000, por la que se establece un Marco Comunitario de actuación en el ámbito de la Política de Aguas | 11/03/2008 |

A nivel estatal, el gobierno español constituyó el “Consejo Asesor del Medio Ambiente” (RD 224/1994 y RD 1720/1996, BOEs 09/03/94 y 09/08/96, respectivamente), el “Consejo Nacional del Clima” (RD 177/1998, BOE, 18/02/98) y el “Consejo Nacional de Bosques” (RD 203/2000, BOE, 19/02/00); además, también creó el “Ministerio de Medio Ambiente” (RD 758/1996, BOE 06/05/1996), cuyas funciones se resumen en la siguiente definición: “El Ministerio de Medio Ambiente es el departamento encargado de la propuesta y ejecución de la política del Gobierno en materia de conservación de la naturaleza, desarrollo sostenible, impacto ambiental y ordenación de la flora, la fauna, los hábitat y los ecosistemas naturales, la gestión y custodia del dominio público marítimo terrestre y de todas sus actuales competencias” (RD 553/2004, BOEs 18/04/2004 y 20/04/2004). El citado RD 553/2004 suprimió la “Secretaría de Estado de Aguas y Costas”, que a su vez se componía de tres direcciones generales: “Dirección General del Agua”, “Dirección General de Costas” y “Dirección General para la Biodiversidad”, creándose la “Secretaría General para el territorio y la Biodiversidad” (RD 562/2004, BOE 20/04/2004). En el año 2008 se realizó una reestructuración de los departamentos ministeriales y las secretarías de estado (RD 438/2008, BOE 16/04/08), se fusionaron los Ministerios de Medio Ambiente y de Agricultura, Pesca y Alimentación en el actual Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. En este decreto se suprimieron la “Subsecretaría de Medio Ambiente” y la “Dirección General de Costas”, y se creó la “Secretaría General del Mar” de la que depende la “Dirección General de Sostenibilidad de la Costa y el Mar” la cual asumió las funciones anteriormente atribuidas a la “Dirección General de Costas”.

Por otro lado, según el artículo 149.1.23º de la Constitución Española, las comunidades autónomas tienen capacidad normativa propia sobre protección del medio ambiente, que se traduce tanto en la posibilidad de

desarrollar la legislación básica como en la facultad de establecer normas adicionales de protección. Además, con base en el artículo 148.9º de la Constitución, las Comunidades Autónomas también pueden asumir competencias en la gestión en materia de protección del medio ambiente. Los ayuntamientos, por su parte, también tienen asignadas una serie de competencias específicas de gestión y capacidad normativa en el campo medioambiental, recogidas por la Ley 7/1985 (BOE 03/04/1985) y el RD legislativo 781/1986 (BOEs 22/04/1986 y 23/04/1986).

Para coordinar y ejercer las competencias de la Junta de Andalucía en materia de aguas se constituye la “Agencia Andaluza del Agua” en enero de 2005 (D 55/2005, del 22 de febrero de 2005), como organismo autónomo dependiente de la Consejería del Medio Ambiente. Este organismo asume plenamente sus funciones a partir del 1 de enero de 2009 tras la entrada en vigor del acuerdo de transferencia en materia de recursos y aprovechamiento hidráulicos correspondientes a las aguas de la cuenca del Guadalquivir que discurren íntegramente por el territorio de la Comunidad Autónoma Andaluza. Entre las funciones y competencias de este organismo se encuentran:

- La elaboración, seguimiento y revisión de la planificación hidrológica y, en relación con la cuenca del Guadalquivir, la participación en la planificación hidrológica de la Demarcación Hidrográfica.
- La administración, protección y control de todos los aprovechamientos hidráulicos y del dominio público hidráulico.
- La realización de obras hidráulicas de competencia de la Comunidad Autónoma y su explotación y mantenimiento.
- La planificación, ordenación y regulación de los servicios de abastecimiento de agua en alta y saneamiento de las aguas residuales urbanas, así como de la prevención de avenidas e inundaciones.
- El otorgamiento de concesiones y autorizaciones relativas al dominio público hidráulico, así como su censo.
- El apoyo técnico a la formulación de la política de aguas de la Junta de Andalucía.
- La elaboración y difusión de la información sobre la materia hidráulica.
- La colaboración en la investigación, desarrollo tecnológico e innovación en materia de aguas.

- La participación en organismos nacionales e internacionales especializados en la materia.
- La gestión, recaudación y administración de los recursos económicos que correspondan a la Agencia.
- Aquellas otras que le sean atribuidas legal o reglamentariamente o se deriven de convenios

En lo que se refiere a la política de aguas, el gobierno español tuvo como objetivo, con la Ley 29/1985, de 2 de agosto, de Aguas, y con la Ley 22/1988, de 28 de julio, de Costas, la protección de las aguas marítimas y continentales, así como de alcanzar un adecuado nivel de calidad de las mismas. La Ley 29/1985 ha sido modificada parcialmente en varias ocasiones, siendo la modificación principal, la realizada por la Ley 46/1999 (BOE 14/12/1999), con el fin de adaptar la anterior normativa a las nuevas necesidades en relación con la cantidad y calidad del agua y con su gestión.

Además, la Directiva 271/1991 de la CEE (DOCE 30/05/1991), de 21 de mayo, sobre tratamiento de aguas residuales urbanas transpuesta a la legislación estatal mediante el Real Decreto-Ley 11/1995, de 28 de diciembre, y el Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, vino a completar la protección que proporcionan las citadas leyes, estableciendo distintos niveles de depuración de las aguas residuales urbanas, con carácter previo a su evacuación, en función de la carga contaminante del vertido y de la zona afectada por el mismo. De aquí que en relación con el control de los vertidos en estas zonas, en 1999, se aprobara y publicara, por la Consejería de la Presidencia de la Junta de Andalucía, el Decreto 54/1999, de 2 marzo 1999 (de conformidad con lo dispuesto en los Reales Decretos 11/1995 y 509/1996), por el que se establecían las denominadas “zonas sensibles”, “normales” y “menos sensibles” en las aguas del litoral y de las cuencas hidrográficas intracomunitarias de la Comunidad Autónoma de Andalucía. Según el citado texto, se definen los siguientes tipos de ecosistemas acuáticos:

- ❖ **Zonas sensibles:** *“Se consideran zonas sensibles aquellos medios acuáticos superficiales que teniendo un intercambio de aguas escaso o que recibiendo nutrientes, sean eutróficos o puedan llegar a serlo en un futuro próximo si no se adoptan medidas de protección, así como las aguas dulces de superficie destinadas a la obtención de agua potable, que podrían contener una concentración de nitratos superior a la que establecen las*



*disposiciones vigentes para este tipo de aguas si no se tomasen medidas de protección.”*

- ❖ **Zonas menos sensibles:** “*Se consideran zonas menos sensibles aquellos estuarios, bahías abiertas y otras zonas marinas con un buen intercambio de aguas y que no tengan eutrofización o agotamiento de oxígeno, o en las que se considera improbable que lleguen a desarrollarse fenómenos de eutrofización o de agotamiento del oxígeno por el vertido de aguas residuales urbanas.*”
- ❖ **Zonas normales:** “*Se consideran zonas normales aquellos medios acuáticos superficiales no definidos como sensibles o menos sensibles.*”

Con carácter general, se determina que las aguas residuales que sean vertidas a una *zona menos sensible* serán objeto de, al menos, un tratamiento primario. Aquellas que se viertan a *zonas normales* estarán sometidas a un tratamiento secundario o proceso equivalente y, por último, las que se viertan a *zonas sensibles* deberán someterse a un tratamiento adicional de eliminación de nutrientes. Esta declaración, contenida en el Decreto 54/1999, además de cumplir un mandato legal, era coherente con la legislación autonómica sobre aguas litorales con que se dotó a la Comunidad Autónoma de Andalucía, en desarrollo de la Ley 7/1994, de Protección Ambiental, y con el convenio firmado entre el Ministerio de Obras Públicas, Transportes y Medio Ambiente y la Consejería de Obras Públicas y Transportes de la Comunidad Autónoma de Andalucía sobre actuaciones del Plan Nacional de Saneamiento y Depuración de Aguas Residuales Urbanas. Para dicho cometido, la Comunidad Autónoma de Andalucía había formulado en 1997 (BOJA 18/02/1997) el “Plan Director de Infraestructuras de Andalucía” como instrumento base para la definición y coordinación de las actuaciones en materia de infraestructuras de la Junta de Andalucía. El Plan Director definió, entre sus programas de actuación, el “Programa de saneamiento y depuración”, donde se plantearon objetivos a cumplir en la materia, concordantes con la normativa de la Unión Europea (DOCE 30/05/91) y con el “Plan Nacional de Saneamiento y Depuración” (BOE 12/05/1995), divididos en tres horizontes temporales: 1998, 2000 y 2005. En el año 1992 se depuraba en Andalucía el 28% de la carga contaminante procedente de aguas residuales urbanas. En los años sucesivos, mediante la aplicación del plan anteriormente mencionado, el número de instalaciones urbanas para el tratamiento de aguas residuales urbanas ha ido creciendo paulatinamente, lo

que eleva la carga contaminante depurada al 35% en 1995, al 57% en el año 2000 y al 70% en 2005, aunque aún era insuficiente el grado de cumplimiento de la directiva europea. En 2008 se continuó con la evolución positiva elevándose el porcentaje de carga contaminante depurada hasta el 75,4%, pero sin alcanzar los niveles de la directiva [MEDIO AMBIENTE EN ANDALUCIA, INFORME 2008]. La distribución de las depuradoras en Andalucía no es homogénea sino que ha venido determinada por una serie de criterios que se definieron a priori. Inicialmente, el mayor reto de la depuración de las aguas residuales urbanas era reducir los focos contaminantes que afectaban a áreas sensibles. Los grandes impactos contaminantes propiciados por las aglomeraciones urbanas también fueron un objetivo prioritario de actuación. El tercer gran eje de esas prioridades fue establecido en los enclaves turísticos del litoral.

A nivel europeo, las primeras acciones de protección del medio ambiente comenzaron en 1972 (*“Cumbre de París”*), en la que los Estados miembros de la Unión Europea se pusieron de acuerdo sobre la futura importancia de la protección del medio ambiente. Sin embargo, el ámbito del medio ambiente no fue vinculante jurídicamente hasta 1987 y en el marco del *“Acta Única Europea”*.

Desde 1972 han sido aprobados más de 300 documentos en relación con el medio ambiente, que los Estados miembros de la UE deben transponer en el derecho nacional, aplicar y controlar. En este contexto, se creó la *“Agencia Europea de Medio Ambiente”* por el Reglamento 1210/90 del Consejo Europeo (DOCE 11/05/1990), modificado posteriormente por el Reglamento 933/1999 (DOCE 05/05/1999). Esta Agencia ha sido operativa desde 1994, siendo su misión la recogida, elaboración y difusión de información sobre la situación y la evolución del medio ambiente a escala europea.

Existen diversos programas de acción para la protección del medio ambiente de la Unión Europea, creados en 1972, que han ayudado a integrar aspectos ecológicos y ambientales en todas las áreas de las políticas de la Comunidad, habiéndose sucedido, desde entonces, seis programas de acción en este sentido. Si bien el *“Acta Única Europea”* es reconocida como el punto clave de la política ambiental europea, el *“Tratado de Maastricht”* (1992) fue aún más lejos, otorgando a la protección ambiental un estatus legal; por último el *“Tratado de Ámsterdam”* (1999) supuso el refuerzo de las bases

legales ambientales para una mayor protección ambiental y para promover el desarrollo sostenible en toda la UE, reflejándose sus directrices en el “V Programa de Acción para el Medio Ambiente (*“Hacia un desarrollo sostenible”*)” para el periodo 1992-2000, que marcó el principio en el que la acción comunitaria tenía en cuenta el conjunto de todos los factores de contaminación (industria, energía, turismo, transporte, agricultura...). En la actualidad está en vigor el “VI Programa de Acción en Materia de Medio Ambiente de la Unión Europea (*Medio Ambiente 2010: el futuro está en nuestras manos*)”, que contempla una visión general de las medidas que se deberán tomar entre los años 2002 y 2012 para aplicar en la Unión Europea el “Principio del Desarrollo Sostenible”, referido al uso racional de los recursos naturales y la protección del ecosistema mundial en las figuras de los ciudadanos (respeto al medio, cambio de hábitos), ciencia (conocimientos y soluciones) y poderes públicos (legislación y cooperación con otros países).

El control de la contaminación del agua fue uno de los primeros aspectos que se incluyeron en la política de Medio Ambiente de la UE. Aunque al principio se optó por la adopción de múltiples Directivas específicas para cada campo de acción o cada uso del agua, en la actualidad se cuenta con una Directiva Marco (Directiva 60/2000, (DOCE 22/12/2000)), por la que se estableció un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. Esta directiva extendió el campo de la protección acuática a todas las aguas y estableció, como objetivo para el año 2015, conseguir un “*buen estado*” de las aguas europeas y que el “uso sostenible del agua” esté asegurado en toda Europa. Para alcanzar estas metas, la norma requería la cooperación entre los distintos estados miembros, así como la participación de las entidades locales y ONGs en las actividades de gestión del agua. Además, reafirmó el principio según el cual “*el que contamina, paga*”. Asimismo, se contempla que las aguas de la Unión están sometidas, desde hace años, a la creciente presión que supone el continuo crecimiento de la demanda de agua de buena calidad en cantidades suficientes para todos los usos, definiéndose una serie de términos relacionados con las aguas y la contaminación acuática, de la siguiente forma:

- ♦ **Aguas superficiales:** se entiende como tal a “*las aguas continentales, excepto las aguas subterráneas, las aguas de transición y las aguas costeras y, en lo que se refiere al estado químico, también las aguas territoriales*”.

- ♦ **Aguas continentales:** son “todas las aguas quietas o corrientes en la superficie del suelo y todas las aguas subterráneas situadas hacia tierra desde la línea que sirve de base para medir la anchura de las aguas territoriales”.
- ♦ **Río:** se define como la “masa de agua continental que fluye en su mayor parte sobre la superficie del suelo, pero que puede fluir bajo tierra en parte de su curso”.
- ♦ **Aguas de transición:** son aquellas “masas de agua superficial próximas a la desembocadura de los ríos que son parcialmente salinas como consecuencia de su proximidad a las aguas costeras, pero que reciben una notable influencia de flujos de agua dulce”.
- ♦ **Cuenca hidrográfica:** corresponde a la “superficie de terreno cuya escorrentía superficial fluye en su totalidad a través de una serie de corrientes, ríos y, eventualmente, lagos hacia el mar por una única desembocadura, estuario o delta”.
- ♦ **Sustancias peligrosas:** incluye a “las sustancias o grupos de sustancias que son tóxicas, persistentes y pueden causar bioacumulación, así como otras sustancias o grupos de sustancias que entrañan un nivel de riesgo análogo”.
- ♦ **Contaminación:** se define como “la introducción directa o indirecta, como consecuencia de la actividad humana, de sustancias o calor en la atmósfera, el agua o el suelo, que puedan ser perjudiciales para la salud humana o para la calidad de los ecosistemas acuáticos, o de los ecosistemas terrestres que dependen directamente de ecosistemas acuáticos, y que causen daños a los bienes materiales o deterioren o dificulten el disfrute y otros usos legítimos del medioambiente”.
- ♦ **Contaminante:** “cualquier sustancia que pueda causar contaminación, en particular las sustancias enumeradas en el anexo VIII de la Directiva Marco”.
- ♦ **Sustancias prioritarias:** son aquellas “sustancias que presentan un riesgo significativo para el medio acuático o a través de él”. Entre estas sustancias se encuentran las sustancias peligrosas prioritarias que se establecen de acuerdo a la selección de sustancias de riesgo realizada en la legislación comunitaria pertinente relativa a sustancias peligrosas o en los acuerdos internacionales pertinentes.

En el anexo VIII de la Directiva se recoge el listado de los principales contaminantes, entre los que se encuentran los metales:

ANEXO VIII  
LISTA INDICATIVA DE LOS PRINCIPALES CONTAMINANTES

1. *Compuestos organohalogenados y sustancias que puedan dar origen a compuestos de esta clase en el medio acuático.*
2. *Compuestos organofosforados.*
3. *Compuestos organoestánicos.*
4. *Sustancias y preparados, o productos derivados de ellos, cuyas propiedades cancerígenas, mutágenas o que puedan afectar a la tiroides, esteroideogénica, a la reproducción o a otras funciones endocrinas en el medio acuático o a través del medio acuático, estén demostradas.*
5. *Hidrocarburos persistentes y sustancias orgánicas tóxicas persistentes y bioacumulables.*
6. *Cianuros.*
7. **Metales y sus compuestos.**
8. *Arsénico y sus compuestos.*
9. *Biocidas y productos fitosanitarios.*
10. *Materias en suspensión.*
11. *Sustancias que contribuyen a la eutrofización (en particular nitratos y fosfatos).*
12. *Sustancias que ejercen una influencia desfavorable sobre el balance de oxígeno (y computables mediante parámetros tales como DBO o DQO).*

En la decisión N°2445/2001 del Parlamento Europeo se aprobó la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la Política de Aguas y por la que se modificó la Directiva 60/2000. Esta lista se recoge en la **Tabla I.15**, en la que también se indica si la sustancia se considera además como “peligrosa prioritaria”. En esta lista se incluye varios metales y sus compuestos como el Cd, Pb, Hg y Ni y los derivados organometálicos del estaño, siendo considerados la mayoría como sustancias prioritarias peligrosas. Se observa en dicha tabla que el Cd y sus compuestos ocupan uno de los puestos más elevados por prioridad dentro de las sustancias prioritarias.

En esta *norma* también se recogen las estrategias para combatir la contaminación de las aguas. Por otro lado, se proponen *guías* para la evaluación del *estado de las aguas* superficiales por medio del empleo de *indicadores de calidad biológicos* (fitoplancton, macroalgas, angiospermas, fauna bentónica de invertebrados y fauna ictiológica), *indicadores de calidad hidromorfológicos* (mareas y condiciones morfológicas) e *indicadores de calidad fisicoquímicos* (condiciones generales, contaminantes sintéticos específicos y contaminantes no sintéticos específicos). Asimismo, también se especifican los *procedimientos* que deberán seguir los estados miembros para el

establecimiento de las normas de calidad química, en las que se recoge la necesidad de desarrollar programas de monitorización periódica, tanto sobre las aguas y sedimentos como sobre la biota, entre la que se incluyen los peces.

**TABLA I.15.** Lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la Política de Aguas.

| O.P. | NÚMERO CAS <sup>(1)</sup> | NÚMERO UE <sup>(2)</sup> | NOMBRE DE LA SUSTANCIA PRIORITARIA | SUSTANCIA PELIGROSA PRIORITARIA |
|------|---------------------------|--------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| (1)  | 15972-60-8                | 240-110-8                | Alacloro                           |                                 |
| (2)  | 120-12-7                  | 204-371-1                | Antraceno                          | X                               |
| (3)  | 1912-24-9                 | 217-617-8                | Atrazina                           | X                               |
| (4)  | 71-43-2                   | 200-753-7                | Benceno                            |                                 |
| (5)  | no aplicable              | no aplicable             | Difeniléteres bromados             | X                               |
| (6)  | 7440-43-9                 | 231-152-8                | Cadmio y sus compuestos            | X                               |
| (7)  | 85535-84-8                | 287-476-5                | C10-13-cloroalcanos                | X                               |
| (8)  | 470-90-6                  | 207-432-0                | Clorofenvinfos                     |                                 |
| (9)  | 2921-88-2                 | 220-864-4                | Cloropirifos                       | X                               |
| (10) | 107-06-2                  | 203-458-1                | 1,2-dicloroetano                   |                                 |
| (11) | 75-09-2                   | 200-838-9                | Diclorometano                      |                                 |
| (12) | 117-81-7                  | 204-211-0                | Di(2-etilhexil)ftalato (DEHP)      | X                               |
| (13) | 330-54-1                  | 206-354-4                | Diurón                             | X                               |
| (14) | 115-29-7                  | 204-079-4                | Endosulfán                         | X                               |
|      | 959-98-8                  | irrelevante              | (alfa-endosulfán)                  |                                 |
| (15) | 206-44-0                  | 205-912-4                | Fluoranteno                        |                                 |
| (16) | 118-74-1                  | 204-273-9                | Hexaclorobenceno                   | X                               |
| (17) | 87-68-3                   | 201-765-5                | Hexaclorobutadieno                 | X                               |
| (18) | 608-73-1                  | 210-158-9                | Hexaclorociclohexano               | X                               |
|      | 58-89-9                   | 200-401-2                | (gamma-isómero, lindano)           |                                 |
| (19) | 34123-59-6                | 251-835-4                | Isoproturón                        | X                               |
| (20) | 7439-92-1                 | 231-100-4                | Plomo y sus compuestos             | X                               |

O.P. orden de prioridad

(1) CAS: Número de registro del Chemical Abstract Services

(2) Número UE: Número de registro del catálogo europeo de sustancias químicas comercializadas o la lista europea de sustancias químicas notificadas.

**TABLA I.15 (cont).** Lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas.

| O.P. | NÚMERO CAS <sup>(1)</sup> | NÚMERO UE <sup>(2)</sup> | NOMBRE DE LA SUSTANCIA PRIORITARIA | SUSTANCIA PELIGROSA PRIORITARIA |
|------|---------------------------|--------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| (21) | 7439-97-6                 | 231-106-7                | Mercurio y sus compuestos          | X                               |
| (22) | 91-20-3                   | 202-049-5                | Naftaleno                          | X                               |
| (23) | 7440-02-0                 | 231-111-4                | Niquel y sus compuestos            |                                 |
| (24) | 25154-52-3                | 246-672-0                | Nonilfenoles                       | X                               |
|      | 104-40-5                  | 203-199-4                | (4-(para)-nonilfenol)              |                                 |
| (25) | 1806-26-4                 | 217-302-5                | Octilfenoles                       | X                               |
|      | 140-66-9                  | no aplicable             | (para-ter-octilfenol)              |                                 |
| (26) | 608-93-5                  | 210-172-5                | Pentaclorobenceno                  | X                               |
| (27) | 87-86-5                   | 201-778-6                | Pentaclorofenol                    | X                               |
| (28) | no aplicable              | no aplicable             | Hidrocarburos poliaromáticos       | X                               |
|      | 50-32-8                   | 200-028-5                | (Benzo(a)pireno)                   |                                 |
|      | 205-99-2                  | 205-911-9                | (Benzo(b)fluoranteno)              |                                 |
|      | 191-24-2                  | 205-883-8                | (Benzo(g,h,i)perileno)             |                                 |
|      | 207-08-9                  | 205-916-6                | (Benzo(k)fluoroanteno)             |                                 |
|      | 193-39-5                  | 205-893-2                | (Indeno(1,2,3-cd)pireno)           |                                 |
| (29) | 122-34-9                  | 204-535-2                | Simazina                           | X                               |
| (30) | 688-73-3                  | 211-704-4                | Compuestos del tributilestaño      | X                               |
|      | 36643-28-4                | no aplicable             | (Tributilestaño catión)            |                                 |
| (31) | 12002-48-1                | 234-413-4                | Triclorobencenos                   | X                               |
|      | 120-82-1                  | 204-428-0                | (1,2,4-triclorobenceno)            |                                 |
| (32) | 67-66-3                   | 200-663-8                | Triclorometano (cloroformo)        |                                 |
| (33) | 1582-09-8                 | 216-428-8                | Trifluralina                       | X                               |

O.P. orden de prioridad

(1) CAS: Número de registro del Chemical Abstract Services

(2) Número UE: Número de registro del catálogo europeo de sustancias químicas comercializadas o la lista europea de sustancias químicas notificadas.

Los artículos de la Directiva establecen numerosas tareas y actividades que definen su proceso de implementación, denominado proceso de planificación. Se trata de un proceso cíclico a largo plazo cuyo primer ciclo termina en el 2015, que es el primer plazo para la consecución de los objetivos

medioambientales fijados en la Directiva. Los plazos de las actividades planificadas en este primer plazo se muestran en la **Tabla 1.16**.

**TABLA 1.16.** Plazos de las actividades planificadas para la aplicación de la Directiva Marco del Agua.

|          |  |
|----------|--|
| 22/12/03 | Transposición de la Directiva (Art. 24), definición de Demarcaciones Hidrográficas y designación de autoridades competentes (Art. 3)   |
| 22/12/04 | Características de la Demarcación Hidrográfica, estudio del impacto ambiental de la actividad humana y análisis económico del uso del agua (Art.5). Registro de zonas protegidas (Art.6)                           |
| 22/12/06 | Seguimiento de las aguas superficiales, del estado de las aguas subterráneas y de las zonas protegidas (Art.8). Información y consulta públicas sobre calendario y programa de trabajo del Plan de Cuenca (Art.14) |
| 22/12/07 | Esquema provisional de los temas importantes respecto la gestión de agua de la cuenca (Art.14)   |
| 22/12/08 | Consulta pública del borrador del Plan Hidrológico de Cuenca (Art. 14)   |
| 22/12/09 | Publicación de los Planes Hidrológicos de Cuenca (Art.13). Establecimiento de los Programas de Medidas (Art. 11 ap.7)  |
| 22/12/10 | Política de precios que proporcione incentivos adecuados para el uso eficiente de los recursos hídricos (Art.9)  |
| 22/12/12 | Programas de Medidas operativos (Art. 11)  |
| 22/12/15 | Cumplimiento de los objetivos medioambientales (Art.4)   |

El proceso de implantación de la Directiva tiene dos dimensiones íntimamente relacionadas: la europea y la nacional, y a su vez dentro de la nacional, a nivel autonómico.

La dimensión europea conlleva la participación en la Estrategia Común de Implantación de la Directiva, en la que intervienen todos los países de la UE. Esta estrategia incluye: contribuir a la realización de documentos, seguir los desarrollos de las estrategias de implementación y servir de vínculo de unión entre las cuestiones nacionales y europeas.

La dimensión nacional conlleva por un lado el coordinar adecuadamente la implantación de la Directiva con todas las autoridades competentes implicadas: organismos de cuenca, administraciones autonómicas, otros ministerios, etc. y por otro transmitir adecuadamente el desarrollo de la implantación de la Directiva a nivel europeo a las autoridades



competentes nacionales: transmisión de documentos, estrategias, participación activa en grupos de trabajo, reuniones, seminarios, etc.

El punto focal encargado de la coordinación de los trabajos relativos a la implantación de esta Directiva es la Subdirección General de Planificación Hidrológica y Uso Sostenible del Agua del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, incluyendo la preparación y adecuación de la información para su remisión a la Comisión Europea.

El artículo 5 de la Directiva Marco de Agua establece que cada Estado Miembro de la Unión Europea velará para que cada Demarcación Hidrográfica situada en su territorio efectúe un análisis de las características de la demarcación, un estudio de las repercusiones de la actividad humana en el estado de las aguas superficiales y subterráneas y un análisis del uso del agua.

Dentro de los plazos establecidos por la Directiva Marco del Agua se contemplaba el análisis de las presiones e impactos que afectan al agua y al análisis económico con fecha límite de 2005, debiendo de ser revisadas y actualizados hasta el 2013.

Además el artículo 6 de la Directiva Marco del Agua establece que cada Estado Miembro de la Unión Europea debe velar para que cada Demarcación Hidrográfica establezca uno o más registros de todas las zonas que hayan sido declaradas objeto de una protección especial en virtud de una norma comunitaria específica relativa a la protección de los hábitats y especies que dependen directamente del agua. Los primeros borradores de los Informes de los artículos 5 y 6 de la Directiva Marco se entregaron de forma provisional por las Confederaciones Hidrográficas correspondientes en diciembre de 2004. Desde entonces, durante el año 2005 se fueron mejorando y los informes actualizados se fueron poniendo a disposición pública.

Es por ello que los art. 5 y 6 de las Cuencas Mediterránea y Atlántica Andaluza se elaborasen en su inicio por las Confederaciones Hidrográficas existentes en esa época (Confederación Hidrográfica del Sur, Confederación del Guadalquivir y Confederación del Guadiana, respectivamente). Actualmente, esta información ha sido revisada y asumida por la Agencia Andaluza del Agua, a través de un proceso de homogenización y unificación en

los informes de las Cuencas Mediterránea y Atlántica Andaluzas que, desde el 2005 y el 2006, respectivamente, son de su competencia. Estos informes se trasladaron al Ministerio de Medio Ambiente mediante la plataforma electrónica WISE (Sistema de Información Europeo de Aguas), para su posterior envío a Bruselas (año 2006), en el cumplimiento de lo recogido en la Directiva Marco de Agua.

Una vez finalizados los trabajos del art. 5 y 6 (caracterización de las demarcaciones hidrográficas y registro de zonas protegidas), las tareas de planificación incluían el objetivo de elaborar para el año 2009 un plan hidrológico que es el eje principal de la aplicación de la DMA, en la medida en que constituye la principal herramienta de gestión prevista para alcanzar los objetivos medioambientales y el principal mecanismo de información y notificación de la implantación de la DMA a la Comisión Europea y al público. La entrada en vigor de este Plan Hidrológico fue el 31 de diciembre de 2009.

En resumen, el desarrollo del proceso de planificación de la DMA en España en el periodo 2007-2009, es decir, en el periodo de la elaboración del plan hidrológico propiamente dicho y del desarrollo del programa de medidas, ha requerido abordar cuatro líneas de actuación simultáneas:

- Plan hidrológico.
- Programa de medidas.
- Evaluación ambiental estratégica.
- Participación pública.

En la actualidad, se está efectuando el seguimiento y revisión del plan hidrológico mediante un sistema de información sobre el estado de las masas de agua, teniendo en cuenta también los objetivos ambientales específicos de las zonas protegidas. La Comunidad autónoma es la encargada de establecer este seguimiento al plan hidrológico, debiendo informar con periodicidad no superior al año al Ministerio Ambiente, y Medio Rural y Marino. Asimismo, dentro del plazo de tres años a partir de la publicación del plan hidrológico o de su actualización, debe presentar un informe intermedio que detalle el grado de aplicación del programa de medidas previsto.

## CAPÍTULO II: METODOLOGÍA

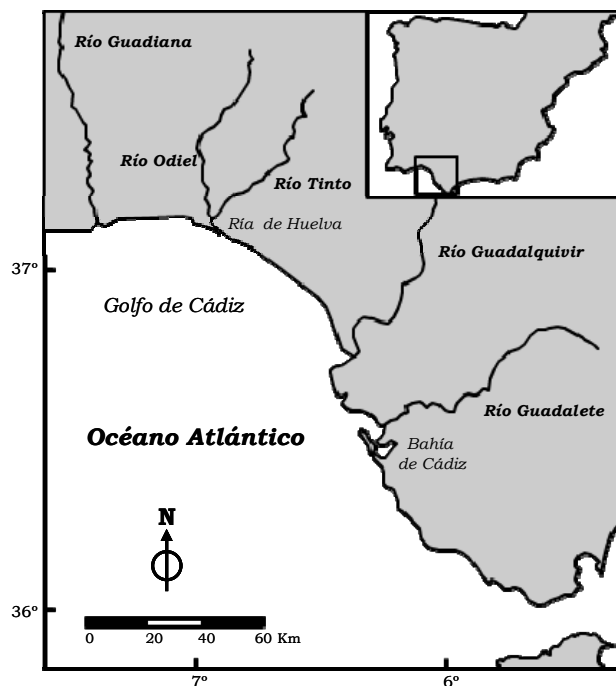


## II.1. DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

### CONTEXTO GEOGRÁFICO

#### II.1.1. CONTEXTO GEOGRÁFICO

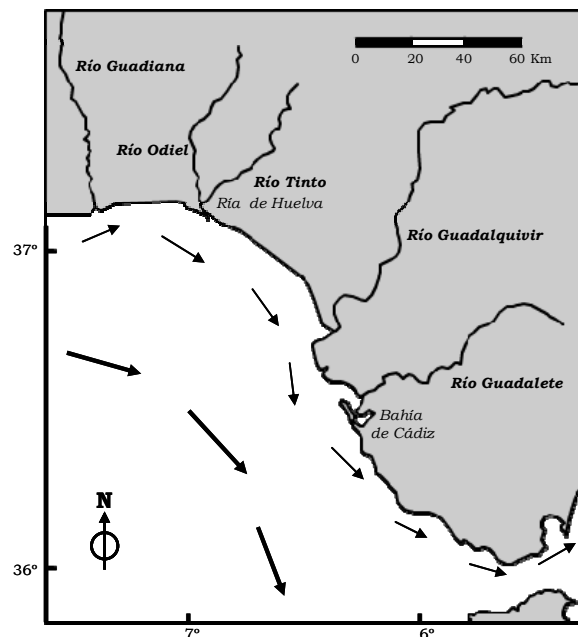
La mayor parte del litoral atlántico andaluz se encuentra formando parte del Golfo de Cádiz, el cual comprende desde el Cabo de Santa María (Portugal) hasta el Cabo de Trafalgar (España) y que además, por su extensión, es el mayor de la Península Ibérica. En él desembocan dos importantes ríos, Guadiana y Guadalquivir, y una serie de ríos menores entre los que destacan los ríos Tinto y Odiel, en Huelva, y Guadalete, en Cádiz. Además, la proximidad del Estrecho de Gibraltar, punto de unión de las aguas del Océano Atlántico con las del Mediterráneo, representa una característica singular del litoral SO de la Península Ibérica (**Figura II.1**).



**FIGURA II.1.** Situación geográfica del litoral atlántico andaluz.

La geología de las zonas costeras muestra un dispositivo de unidades del Cenozoico-Cuaternario, destacando los procesos sedimentarios que configuran una buena parte del litoral del Golfo de Cádiz en el que abundan las zonas de marisma.

El marco hidrodinámico de este golfo se caracteriza por la presencia de distintas masas de agua con diferentes condiciones físico-químicas. Cuatro masas de agua distintas configuran la circulación marina en el Golfo de Cádiz y el Estrecho de Gibraltar: (i) masas de agua superficial del Océano Atlántico que ocupan las plataformas ibérica y africana y se desplazan en dirección al Estrecho de Gibraltar, (ii) masas de agua de profundidad intermedia procedentes del Océano Atlántico, (iii) masas de agua procedentes de las áreas costeras de la Península Ibérica y (iv) masas de agua más profundas y densas procedentes del Mar Mediterráneo y que se encuentran condicionadas por la morfología de los fondos marinos. La influencia del Océano Atlántico prevalece sobre la del Mar Mediterráneo en los dos ecosistemas investigados debido a la dirección noroeste-sureste de las corrientes oceánicas superficiales en zonas próximas a la costa del Golfo de Cádiz, como se muestra en la **Figura II.2**.



**FIGURA II.2.** Circulación de las aguas superficiales en el Golfo de Cádiz.

Además, la hidrodinámica del Golfo de Cádiz se encuentra controlada también por la existencia de flujos compensatorios como consecuencia del déficit hídrico del Mediterráneo, siendo por tanto mayor el flujo de entrada ( $1,20 \text{ Hm}^3\text{s}^{-1}$ ) que el de salida hacia el Atlántico ( $1,14 \text{ Hm}^3\text{s}^{-1}$ ) [PENDON, 1999]. La propagación de la onda de marea a lo largo del Golfo de Cádiz tiene un sentido principal desde el Este hacia el Oeste, es decir, desde el Estrecho de Gibraltar hasta el cabo de San Vicente.

### **II.1.2. ASPECTOS CLIMATOLÓGICOS**

---

Los ciclos meteorológicos (régimen de precipitaciones, temperatura, radiación solar y viento) ejercen un efecto muy importante sobre el caudal de los aportes fluviales, composición y producción biológica, lo que a su vez repercute sobre aquellas áreas marinas que reciben esta agua.

Si bien a escala mundial o incluso a escala del continente europeo toda Andalucía podría englobarse dentro de un mismo tipo climático; el mediterráneo, una mirada en detalle de su interior permite establecer algunas distinciones entre unos ámbitos y otros, lo que conduciría a una cierta forma de regionalización climática. Esta regionalización partiría de una triple distinción entre climas costeros, climas de interior y climas de montaña. A su vez la fragmentación de cada uno de estos tipos lleva a establecer un total de seis tipos climáticos para la comunidad andaluza: clima mediterráneo oceánico de la costa atlántica, clima mediterráneo subtropical, clima mediterráneo subdesértico, clima mediterráneo semicontinental de veranos cálidos, clima mediterráneo continental de inviernos fríos y clima de montaña [Consejería de Medio Ambiente: Junta de Andalucía: los tipos climáticos en Andalucía].

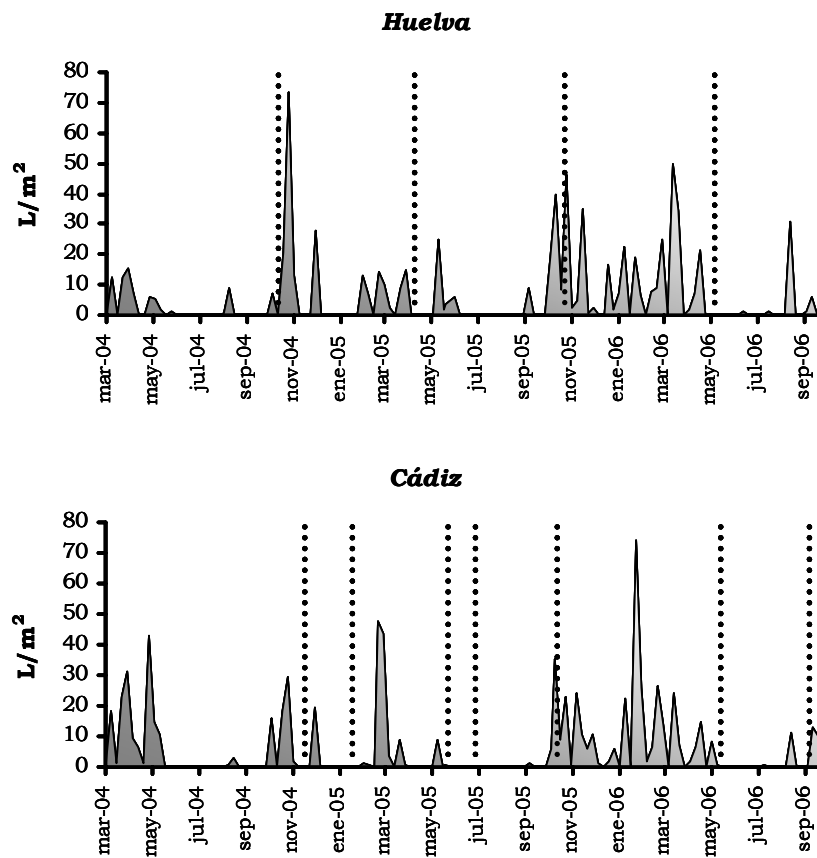
El tipo climático que afecta a toda la costa atlántica andaluza, desde su extremo occidental en Huelva, hasta el estrecho de Gibraltar, es el denominado clima mediterráneo oceánico de la costa atlántica. El hecho distintivo de este tipo de clima es la influencia suavizadora del océano, que reduce la amplitud térmica anual, atemperando los inviernos, en los cuales la temperatura media anual se sitúa siempre por encima de  $10^\circ$ , y los veranos que registran temperaturas medias en torno a  $25^\circ$  y en los que solo en ocasiones excepcionales se superan los  $40^\circ$  de temperatura máxima. Las

precipitaciones no son demasiado abundantes, situándose entre los 500 y los 600 L m<sup>-2</sup>. El relieve no contribuye a potenciar la acción de las perturbaciones frontales como ocurre en las sierras, no obstante la apertura o cercanía al Atlántico determina que las precipitaciones no sean en ningún caso exiguas, con un predominio de las lluvias invernales y un periodo de sequía en el tiempo estival. Es también destacable la elevada insolación, determinada por la latitud subtropical y la abundancia de situaciones anticiclónicas sobre la región, superándose en algunos lugares las 3000 horas de sol anuales. Por último la condición de frontera entre dominios diferentes, el terrestre y el marino, con características térmicas y barométricas muy distintas convierte a las costas en lugares de intenso gradiente barométrico que impulsa el viento a gran velocidad; en el estrecho de Gibraltar a esta condición costera se une la de angosto pasillo en el contacto entre dos continentes diferentes. El estrechamiento fuerza la canalización del aire e intensifica su velocidad, y ello es lo que explica que sea precisamente en este ámbito en el que se registran los vientos más fuertes. El viento es un elemento climático de la zona que destaca por su particular relevancia constituyendo un recurso apreciado en la región, a la vez que un elemento generador de riesgos también considerables.

Las precipitaciones registradas durante el periodo en el que se han realizado estos estudios (período 2004-2006) se detallan en la **Figura II.3** [Boletín hidrológico, MMA, <http://servicios2.mma.es/wlbolehi/>]; en ellas se indican, como líneas discontinuas, los meses en los que se han realizado las campañas de muestreo. Se observa claramente en este periodo una diferencia significativa entre los distintos periodos lluviosos (primavera y otoño) y seco (verano). En el otoño de 2004 y la primavera de 2005, el volumen de las precipitaciones medias fue menor que en el otoño de 2005 y la primavera 2006.

El estado de las mareas es un condicionante físico que puede llegar a tener su influencia sobre los parámetros físicos-químicos en los tipos de ecosistemas estudiados, estuario, caño mareal y marismas. Por ello, en la **Tabla II.1** se muestra el estado de la marea en cada campaña de muestreo, indicando la hora de pleamar o bajamar más próxima a la toma de muestra, hay que indicar que en Huelva las tomas de muestras han sido realizadas por la mañana entre las 9:30 y las 14:00, mientras que en Cádiz las muestras han sido tomadas entre las 11:00 y las 12:00.





**FIGURA II.3.** Precipitaciones semanales registradas en el Golfo de Cádiz, durante el periodo 2004-2006, en las estaciones situadas en la capital de Huelva y Jerez de la Frontera (Cádiz), respectivamente.

**TABLA II.1.** Estado de la marea en las campañas de muestreo.

| PUNTO<br>MUESTREO | CAMPAÑAS          |                   |                    |                   |
|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
|                   | 1ª (O-I)          | 2ª (P-V)          | 3ª (O-I)           | 4ª (P-V)          |
| H1/H2/H3          | P 8:40<br>B 15:19 | P 7:56<br>B 13:57 | P 10:29<br>B 16:56 | P 5:57<br>B 11:49 |
| C4                | P 11:01           | B 10:24           | B 12:46            | B 11:02           |
| C5                | P 10:56           | B 14:15           |                    | B 12:26           |

P-pleamar; B-bajamar

### II.1.3. RÍA DE HUELVA: ESTUARIO DE LOS RÍOS TINTO Y ODIEL

El Río Tinto (**Figura II.4**) nace en *La Granada* (Huelva) y tiene su desembocadura en San Juan del Puerto, debe su nombre al color rojizo de sus aguas, debido a que durante un tramo importante de su curso alto, atraviesa zonas de drenaje de yacimientos de piritas. El río de 83 Km de longitud y una descarga media de  $3 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  cubre un área aproximada de  $1700 \text{ Km}^2$ , presenta fuertes oscilaciones en su flujo, típico de un régimen mediterráneo; largos periodos de sequía contrastan con inundaciones de las tierras cercanas al río provocando fuertes corrientes que erosionan y transportan grandes cantidades de material edáfico y sedimentos durante los periodos húmedos, estimándose su flujo medio anual en  $90 \text{ Hm}^3$  [ELBAZ-POULICHET y col., 1999; SAINZ, 2000; RUFO y col., 2007].

El Río Odiel (**Figura II.4**) nace en la Sierra de Aracena (Huelva) y tiene su desembocadura en *Gibraleón*, tras recorrer unos 140 Km y drenar una superficie de  $2300 \text{ Km}^2$ . Su flujo anual es muy irregular, al igual que ocurre con el Río Tinto, habiendo sido estimado en unos  $460 \text{ Hm}^3$  [SAINZ y col., 2003].



**FIGURA II.4.** Estuario de los ríos Tinto y Odiel y Canal del Padre Santo.

Ambos ríos se unen en la *Punta del Sebo* formando un único curso conocido con el nombre de *Canal de Padre Santo*. Este canal confinado entre la costa y el espigón Juan Carlos I, construido en 1980 para prevenir la obstrucción del canal por los sedimentos, tiene una longitud aproximada de 13 Km y una anchura que oscila entre 0,5 Km en su tramo más estrecho y 2 Km en el más ancho, hasta alcanzar el mar en las playas de Mazagón (**Figura II.4**). El *Canal del Padre Santo* presenta una sección transversal asimétrica en la cual las profundidades medias varían entre 6 y 12 m. Desde la *Punta del Sebo* hasta su desembocadura común en el Océano Atlántico ambos ríos forman el estuario conocido como Ría de Huelva.

El régimen mareal, la acción de las olas y la descarga fluvial son los factores más importantes que controlan los procesos hidrodinámicos en el estuario. El régimen mareal es mesomareal y semi-diurno con una oscilación diaria leve. Las olas dominantes provienen del suroeste, asociadas con el régimen de circulación atlántica, y la descargas de sedimentos de los ríos Tinto y Odiel varía de manera estacional presentando un enriquecimiento máximo en el periodo comprendido entre enero y junio, cuando las precipitaciones son más abundantes [FERNÁNDEZ CALIANI y col., 1997].

En la Ría de Huelva se puede identificar en función de las características hidroquímicas del agua tres zonas diferentes (**Figura II.5**) [BORREGO y col., 2004; LÓPEZ-GONZALEZ y col., 2006]:

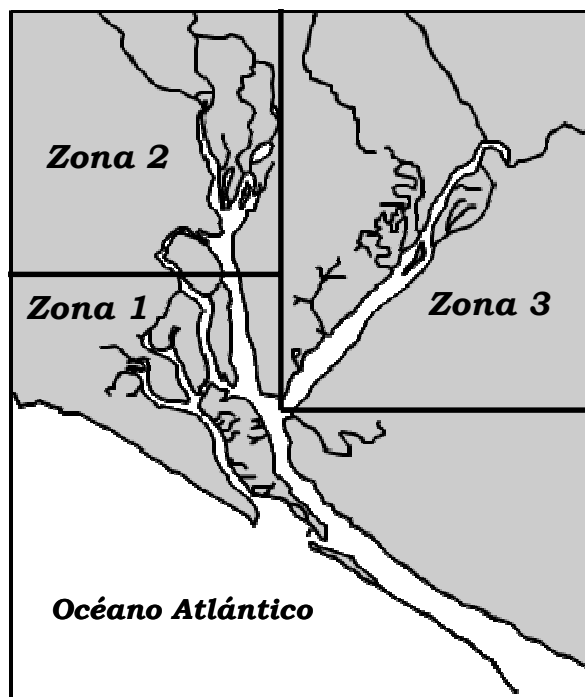
Zona 1- Sector formado por Punta Umbría y el canal del Padre Santo. Este es el sector del estuario con una menor influencia fluvial, el cual presenta unos valores de pH comprendidos entre 6,5 y 8,2, y una salinidad de valor mayor que 17 ‰.

Zona 2- Es la zona del estuario en la cual tiene lugar la mezcla del aporte fluvial del río Odiel con el agua de mar. Las características hidroquímicas del agua muestran un fuerte gradiente longitudinal en esta zona, observándose variaciones de pH dentro del rango de 3,5 y 8 unidades, y una variación en la salinidad entre 2,6 y 21 ‰.

Zona 3- Delimita la zona del estuario en la cual tiene lugar la mezcla del aporte fluvial del Tinto con el agua de mar. Como ocurre en el sector de mezcla del Odiel, se observa un fuerte gradiente en los valores de pH (2,5-7) y salinidad (1,7–19,5 ‰). La gran cantidad de metales pesados transportados por el río Tinto hace que este sector sea el que presenta

una mayor concentración de metales pesados disueltos de toda la Ría de Huelva.

La mayoría de los parámetros físicos y químicos del agua del estuario, como por ejemplo, la salinidad, temperatura, oxígeno disuelto y valores de pH, experimentan variaciones estacionales significativas. Así, durante el verano, los valores de salinidad permanecen aproximadamente constante a 36‰, debido al efecto de las fuertes corrientes, la temperatura del agua es aproximadamente de 26°C cerca de la superficie, el contenido de oxígeno disuelto varía de 4 a 6 mg L<sup>-1</sup>, y los valores de pH oscilan en el intervalo de 6 a 8. En invierno, ocurre una estratificación parcial cuando el Tinto y el Odiel se encuentran, de modo que la capa superficial de la columna de agua es marcadamente menos salina (incluso 5‰) y más ácida (pH=2-5) que en la capa del fondo (salinidad=29-32‰ y pH=5-7) [FERNÁNDEZ CALIANI y col., 1997].



**FIGURA II.5.** Secciones del estuario en función de las propiedades hidroquímicas de las aguas.

La zona de influencia urbana en el tramo bajo de la Ría de Huelva procede de los municipios de Huelva, Palos de la Frontera, Moguer, Mazagón

y, en menor medida Aljaraque y Punta Umbría. Esta área metropolitana comprende más de 200000 habitantes (Huelva: 148027; Moguer: 19032; Aljaraque: 17194; Palos de la Frontera: 8964; Punta Umbría: 14515), cuyo número puede sufrir modificaciones importantes de carácter estacional, si bien la localidad de Huelva aglutina aproximadamente el 70% de la población [INE, 2008]. La influencia urbana se manifiesta fundamentalmente por la existencia de vertidos de aguas residuales en diversos puntos a lo largo de la ría.

Durante los años 1960s el estado español realizó una política de desarrollo regional, siendo Huelva una de las ciudades elegidas por las autoridades para promocionar el desarrollo económico e industrial. Las industrias creadas formaron el denominado *Polo Industrial de Huelva*, básicamente industrias de base, principalmente química y metalúrgica aprovechando la riqueza en recursos naturales que posee (mayor depósito de sulfuros metálicos de mundo).

En la actualidad, este polo está formado básicamente por tres polígonos industriales (**Figura II.6**):

- 1) Polígono Industrial de la Punta del Sebo. Está situado en el término municipal de Huelva, en la margen izquierda del Río Odiel, al suroeste de la ciudad y a una distancia de alrededor de 1000 m. Los núcleos de población más cercanos son Huelva, La Rábida, Palos y Punta Umbría. En él se ubican Foret, Fertiberia, Atlantic Copper y la Central Térmica.
- 2) Polígono Industrial Nuevo Puerto. Situado en el término municipal de Palos, al sur de la localidad, entre la margen izquierda del estero Domingo Rubio y la margen izquierda del canal del Padre Santo. Los núcleos poblacionales más cercanos son La Rábida, Palos, Punta Umbría y Huelva. Se ubican en él, Energía e Industrias Aragonesas, ERT (AC)- División Petróleos, Ertisa, Tioxide, Amoniaco-Urea y Foret.
- 3) Polígono Industrial Tartessos. Situado en el término municipal de Huelva, los núcleos poblacionales más cercanos son San Juan del Puerto, Moguer, Huelva y Palos. Aquí se ubican Celulosa y la Sociedad Española de Carburos Metálicos.

Otras actividades antropogénicas realizadas en la zona son: la Cementera de Niebla, en la margen izquierda del Tinto; El Puerto Autónomo

de Huelva; los yacimientos de la zona y la intensa explotación agrícola de la zona.



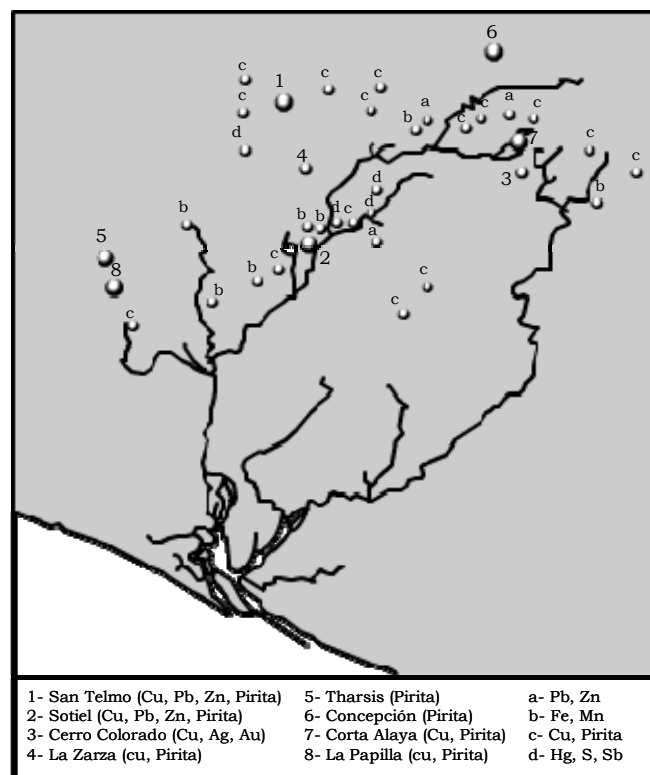
**FIGURA II.6.** Poblaciones y polígonos en el estuario de los ríos Tinto y Odiel.

La Ría de Huelva es tristemente conocida por ser uno de los estuarios más contaminados del mundo, con un elevado contenido de metales pesados en sedimentos y en aguas. El origen de este fenómeno hay que buscarlo en las descargas de vertidos realizados a la ría por las industrias del *Polo Industrial* de Huelva, y las descargas de metales por parte de los ríos Tinto y Odiel.

Los ríos Tinto y el Odiel drenan uno de los depósitos de sulfuros más grandes del mundo, con unas reservas aproximadas de 750 millones de toneladas, conocido como *Cinturón Pirítico Ibérico* (CPI). El CPI es una entidad geológica de 250 Km de longitud y 25 a 70 Km de anchura alojada al sur de la zona geotectónica de la *Península Ibérica*, que se extiende desde la provincia de Sevilla y Huelva hasta la costa de Portugal [SAINZ y col., 2005; SANCHEZ ESPAÑA y col., 2005]. El origen del Cinturón Pirítico Ibérico se ha debido a procesos de precipitación de fluidos hidrotermales que durante un periodo de

intensa actividad volcánica submarina dieron lugar a este depósito de sulfuros [BOULTER, 1993]; la ascensión y comprensión de dicho depósito dio lugar a una masa de más de 1000 millones de toneladas de mineral, constituida por grandes cantidades de sulfuros de hierro y cobre y en menor medida sulfuros de plomo y de zinc.

Desde el norte de la provincia de Sevilla hasta el sur de Lisboa se pueden localizar en el CPI mas de 80 minas, incluyendo depósitos históricos con más de 100 millones de toneladas como las minas de Río Tinto, Tharsis, La Zarza, Sotiel y Aznalcóllar en la parte del territorio español, o las minas de Aljustrel, Loussal y Nerves-Corvo en el territorio portugués (**Figura II.7**).

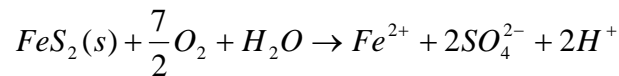


**FIGURA II.7.** Localización de enclaves mineros en la provincia de Huelva.

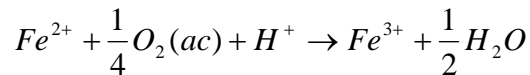
La actividad minera se ha desarrollado en el CPI desde la segunda mitad del tercer milenio a.c. alcanzando gran importancia durante la época fenicia y romana. Después de la caída del Imperio Romano, la actividad minera en la región fue intermitente y a pequeña escala hasta que a mediados

del siglo XIX reapareció la extracción minera a gran escala debido a la alta demanda de Cu y ácido sulfúrico [SARMIENTO y col., 2004]. Esta actividad minera ha dejado, solo en la provincia de Huelva, un legado consistente en un total de 57 pilas de desechos o escorias abandonadas, que suman un volumen total de 107 Hm<sup>3</sup>, y 10 vertederos (42 Hm<sup>3</sup>), lo que lo convierte en una de las mayores acumulaciones de escorias de minas piríticas del mundo [SANCHEZ ESPAÑA y col., 2005].

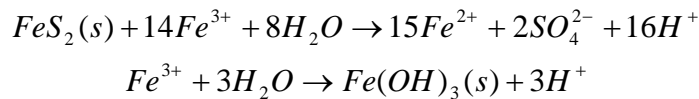
Las extracciones mineras realizadas durante siglos en la provincia de Huelva, tanto en galerías como a cielo abierto, ha provocado el *drenaje ácido de las minas*. El drenaje ácido de las minas es el problema medioambiental más grave asociado con la extracción minera de los depósitos de sulfuros y de carbón. Los sulfuros son estables y muy insolubles en condiciones reductoras. De manera natural, la pirita y otros tipos de sulfuros permanecen enterrados en unas condiciones anóxicas y solo una parte minoritaria de los depósitos está expuesta al exterior. La oxidación de los sulfuros tiene lugar una vez que los minerales son expuestos a las condiciones atmosféricas generándose protones, sulfatos y liberándose Fe además de metales y metaloides. La reacción total que controla este proceso es [CÁNOVAS y col., 2007]:



En presencia de oxígeno, el ión ferroso se oxida a ión férrico:



El ión férrico puede oxidar nueva pirita o puede precipitar como óxido de hierro (III):



Estas reacciones generan acidez y liberan sulfatos, Fe y otros metales muy abundantes en este tipo de depósitos (As, Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn, etc). Además, este fenómeno lleva también asociado un proceso de lixiviación y movilización de metales (Al, Ca, Mg, Mn, Si, etc.) al entrar en contacto las aguas ácidas de escorrentía con suelos, rocas y sedimentos ricos en estos



metales, favoreciendo aún más su solubilización y contribuyendo a su dispersión en el medio ambiente. La oxidación de la pirita se puede ver catalizada también en condiciones abióticas por la presencia de bacterias oxidantes.

De este modo se ha creado un ecosistema único, caracterizado por una acidez extrema y una concentración de metales pesados en aguas y sedimentos anormalmente altas.

Se ha estimado que en 1987 las descargas de contaminantes de los ríos Tinto y Odiel a la Ría de Huelva eran de más de un millón de toneladas de sulfatos al año y unas 20000 toneladas de metales pesados, a las que hay que adicionar las descargas realizadas por las industrias, estimadas en 50000 toneladas de equivalente de ácido sulfúrico, 700000 toneladas de sulfatos y 12000 toneladas anuales de metales pesados [SAINZ y col., 2005]. Esta situación forzó a la Agencia de Medioambiente Andaluza (AMA) en 1988 ha desarrollar un “Plan Corrector de Vertidos” para revertir el impacto medioambiental en la Ría de Huelva, aplicando medidas correctoras sobre los vertidos realizados por la industria. En la actualidad se ha conseguido en gran medida controlar la contaminación de la Ría generada por la actividad industrial siendo las descargas de los ríos Tinto y Odiel la principal entrada de metales pesados al estuario [SAINZ y col., 2004].

Por otro lado, el tratamiento de las aguas residuales en la Ría de Huelva se encuentra asegurado por la EDAR de Huelva, que está diseñada para dar servicio a una población estimada de 180.000 habitantes, aunque se han habilitado los espacios y condiciones necesarios para una ampliación que permita atender a una población de 270.000 habitantes, y con la EDAR de Punta Umbría que da servicio a las localidades de Punta Umbría y El Portil pero que gracias al proyecto de ampliación aprobado en 2008 por la Junta de Andalucía va a dar servicio también a los núcleos urbanos de Aljarque y El Rompido.

---

#### **II.1.4. BAHÍA DE CÁDIZ**

---

Enclavada al suroeste de la provincia de Cádiz, La Bahía de Cádiz se sitúa geográficamente al suroeste de la Península Ibérica, entre 36°23' y

36°37' de latitud norte y 6°08' y 6°15' de longitud oeste, constituyendo un área relativamente extensa del espacio marítimo-terrestre donde las zonas costeras bajas con playas y extensas marismas muy modificadas por la acción humana (**Figura II.8.**). La Bahía de Cádiz alberga el Parque natural Bahía de Cádiz que constituye uno de los ejemplos más significativos de ecosistemas de marismas mareales del arco suratlántico, considerados como uno de los ecosistemas más productivos a nivel biológico, importantes zonas para la cría y alimentación de especies de peces, zonas de cría, paso e invernada de numerosas aves además de jugar un papel principal en el control de la erosión y las inundaciones. Las zonas húmedas del Parque Natural así como los arenales costeros constituyen una de las áreas más importantes para la invernada de aves litorales, albergando más de 60000 individuos entre los que se encuentran especies migratorias de importancia internacional [BOJA num 71, 2004].



**FIGURA II.8.** Costa atlántica de la provincia de Cádiz.

En la **Figura II.8.** se puede apreciar el particular contexto de la Bahía de Cádiz a lo largo del litoral atlántico de la provincia de Cádiz, conformando un entrante de mar sobre la línea de costa gaditana y un área marina limitada por el brazo de tierra sobre el que se sitúa la localidad de Cádiz. Por su distribución geográfica, se trata de una zona costera limitada en la que se sitúan desde zonas influenciadas por actividades de origen urbano e industrial hasta áreas clasificadas como Parque Natural. La población de su área metropolitana es de aproximadamente 360000 habitantes, cifra que se incrementa notablemente durante el periodo estival.

En función de sus características dinámica y fisiográfica, la Bahía de Cádiz puede dividirse en cinco unidades (**Figura II.9**):

- **Bahía exterior.** Con aproximadamente 80 Km<sup>2</sup> de extensión, comprende desde el estrecho de Puntales, en dirección Norte, hasta su salida natural al Océano Atlántico, con profundidades medias que oscilan alrededor de los 10 metros y una composición de su fondo en la que predominan las arenas como fracción principal, apareciendo también grava cerca de los bajos costeros y fango frente a la desembocadura de los ríos y caños mareales [GUTIÉRREZ y col., 1997]. En esta zona se localiza la desembocadura del principal aporte fluvial a la Bahía de Cádiz, el río Guadalete, así como zonas de marisma conectadas a través de una compleja red de caños bajo la influencia del flujo mareal, que determinan a su vez áreas de reconocido valor ecológico (Parque Natural Bahía de Cádiz), así como actividades entre las que destacan la extracción de sal y la acuicultura extensiva e intensiva [TOVAR, 2000].
- **Estrecho de Puntales.** El Estrecho o Canal de Puntales consiste en una zona de aproximadamente 4 Km de longitud y entre 1 y 2 Km de anchura, que comunica la Bahía interior y la exterior. La particular configuración geofísica de esta zona determina un particular modelo hidrodinámico caracterizado por velocidades mayores de los flujos mareales. Asimismo, también hay que destacar que en sus márgenes se encuentran dos importantes áreas industriales de la Bahía relacionadas con la industria de la construcción naval, así como un importante núcleo urbano, la ciudad de Cádiz.

- ***Bahía interior.*** Desde el Canal de Puntales hacia el sur se extiende una amplia zona intermareal, aproximadamente 13 Km<sup>2</sup>, cuya profundidad media es de alrededor de 2 m, quedando casi un 40% de las zonas al descubierto durante la bajamar. No obstante, el tráfico marítimo en la Bahía interior está garantizado a través del dragado de una estrecha franja que comunica el Canal de Puntales con la zona de La Carraca. El saco de la Bahía constituye un ejemplo de un medio sedimentario mareal, los sedimentos que se encuentran son de naturaleza fangosa, al contrario que los de la Bahía exterior, en donde predominan los fondos arenosos, aunque en algunos sectores del saco interno existe una alta representatividad arenosa. Por su particular distribución geográfica, en especial por su confinamiento entre el Canal de Puntales y el Caño de Sancti Petri, los procesos intermareales que controlan la renovación de sus aguas se encuentran limitados, observándose una diferencia de hasta 15 cm entre el nivel de la Bahía interior con la Bahía exterior. Este menor grado de renovación de sus aguas junto con la presencia de áreas urbanas e industriales hacen que esta zona sea especialmente sensible desde un punto de vista medioambiental.
- ***Caño de Sancti Petri.*** El Caño de Sancti Petri y el Río San Pedro son sistemas mareales con aguas de compartimiento típicamente marino y con una alta regeneración bentónica. El Caño de Sancti Petri constituye la principal arteria de comunicación entre las aguas libres del Océano Atlántico con las aguas interiores de la Bahía de Cádiz, a lo largo de un sinuoso recorrido de 18 Km. La anchura del caño es relativamente uniforme llegando a estrecharse en algunos sitios apreciablemente mientras que su profundidad varía en mayor medida. A partir del Caño de Sancti Petri parte una compleja red de caños secundarios cada vez más estrechos y que inundan la marisma a través de enrevesadas ramificaciones que presentan un alto valor ecológico, y son utilizados como salinas y para acuicultura. Dada su relativa estrechez, durante los períodos de marea creciente y vaciante, el agua de mar alcanza velocidades apreciables.
- ***Ríos San Pedro y Guadalete.*** Los cauces fluviales pertenecen a la cuenca del Guadalete-Barbate, siendo el río Guadalete el de mayor entidad. La configuración de la red hidrográfica está condicionada por su morfología y topografía. De este modo, las pendientes débiles y las

amplias superficies han determinado una amplia red de drenaje en la que las fluctuaciones del caudal se deben fundamentalmente a los ascensos y descensos del agua mareal que penetra en los cauces. El Río San Pedro se adentra unos 12 Km desde la Bahía exterior hacia zonas de marisma en dirección NE. Aunque su nombre así lo indica, no puede considerarse en realidad como un río, si bien en su origen sí lo fue. Durante el cuaternario, el río Guadalete discurría por donde hoy lo hace el Río San Pedro y continuaba por el Caño de Sancti Petri, hasta llegar al mar donde actualmente desemboca este caño. El brazo o emisario principal, el que conducía la mayor parte del caudal del río Guadalete, debió ser durante mucho tiempo el Río San Pedro. En épocas más recientes, diversos fenómenos de captación dieron como resultado la desviación del Río San Pedro en el lugar denominado Matagorda. Durante la desecación de las marismas realizada a mediados del siglo XX, se produjo el corte del Río San Pedro y la desecación de gran parte de su cauce, quedando reducido al caño mareal que se conoce en la actualidad [TOVAR, 2000]. En su margen derecha se localiza una red de caños que drenan el agua de las mareas desde las marismas de los Toruños al Río San Pedro.

El río Guadalete es el principal aporte fluvial a la Bahía de Cádiz. Nace en la Sierra del Endrinal (Grazalema) a 1020 m de altitud. Cruza la provincia de Cádiz en dirección noreste-suroeste desembocando en la Bahía de Cádiz por El Puerto de Santa María, tras haber recorrido 170 Km, drenando una cuenca de 3677 Km<sup>2</sup> y con una aportación media anual de 600 Hm<sup>3</sup>. Durante gran parte de su recorrido atraviesa amplias zonas agrícolas de regadíos, lo que ha contribuido negativamente a la calidad de sus aguas por el uso excesivo de abonos y pesticidas. Asimismo, a lo largo de su cauce recibe aguas residuales urbanas e industriales, procedentes éstas últimas principalmente de industrias alcoholeras, mataderos industriales, azucareras y plantas extractoras de orujo. Entre los vertidos de aguas residuales de origen urbano destacan los de las poblaciones de Arcos de la Frontera, Ubrique, Jerez de la Frontera y El Puerto de Santa María, las cuales superan en su conjunto los 320000 habitantes. No obstante, dichas poblaciones cuentan actualmente con estaciones depuradoras de aguas residuales, por lo que la acción contaminante de los vertidos urbanos ha disminuido considerablemente en los últimos años.



**FIGURA II.9.** Regiones fisiográficas y dinámicas de la Bahía de Cádiz.

La costa está afectada por un régimen mesomareal donde el rango de la marea medio es de 2,2 m, en las mareas vivas el rango máximo alcanza 3,7 m y en las mareas muertas el rango mínimo es 0,65 m; la velocidad de la marea en la Bahía de Cádiz alcanza los valores máximos a lo largo del Estrecho de Puntales. La mayor parte del tiempo actúa el oleaje procedente del oeste. Las olas de tormentas están relacionadas mayoritariamente con los temporales atlánticos y llegan del suroeste [LÓPEZ ARROYO y col., 2006]. Las corrientes de marea se caracterizan por tener un corto y acusado periodo creciente y un dilatado periodo de vaciante. Los flujos de marea, consecuencia de las ondas de marea, penetran hacia la bahía interior y red de caños a través del Caño de Sancti Petri en su desembocadura y el Estrecho de Puntales, encontrándose en una zona al suroeste de la Isla del Vicario denominada La Corta, en un tramo que habitualmente queda seco en las bajamareas a partir de las mareas medias vivas. Es de destacar los retardos de

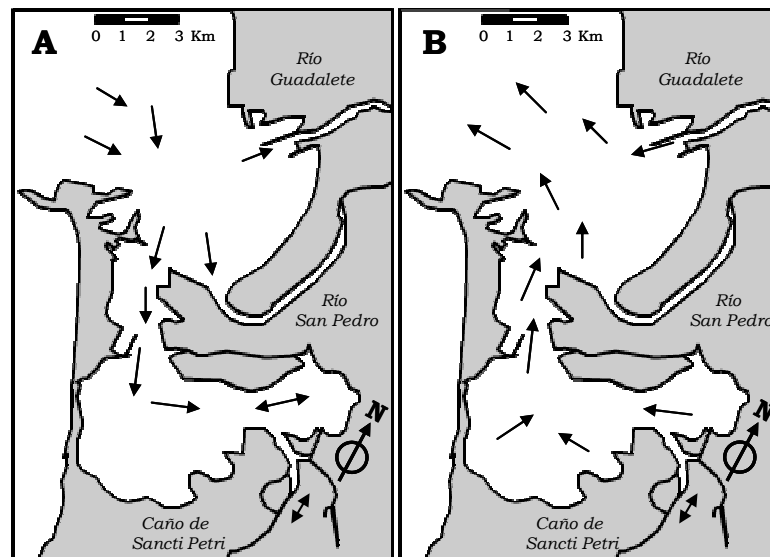
marea que se producen en el interior de los caños. Muchas de las peculiaridades de este espacio se deben especialmente al régimen de mareas y corrientes (flujo y reflujo) como lo demuestra la inmensa zona intermareal descubierta en las bajamares escoradas, las fuertes corrientes establecidas en el canal de navegación o la inmensa zona de marismas recorridas por caños. Gracias al régimen mareal se produce la necesaria renovación de agua para que se mantenga la vida en el interior de las zonas húmedas del Parque Natural de la Bahía de Cádiz.

En la **Figura II.10** se muestra esquemáticamente las direcciones principales de los flujos de masas de agua en la Bahía de Cádiz durante la marea creciente (A) y durante la marea vaciante (B), registrándose las mayores velocidades de flujo durante estos procesos y se hacen mínimas durante la pleamar y la bajamar. Con la marea creciente, penetran masas de agua procedentes del litoral atlántico a través de la Bahía exterior, en sentido de las agujas del reloj, hacia el Canal de Puntales, alcanzándose la Bahía interior y desplazándose hasta el Caño de Sancti Petri. A través de éste último, también, llegan aportes de aguas procedentes del litoral atlántico, aunque cuantitativamente mucho menores a los primeros. A su paso, la marea inunda también amplias zonas de marisma y sistemas de caños entre los que destacan los sistemas que configuran la zona del Río San Pedro y del propio Caño de Sancti Petri [ÁLVAREZ y col., 1999].

Alrededor de la Bahía de Cádiz se agrupan varios núcleos urbanos que comprenden una población total superior a los 370000 habitantes, que se incrementa aún más durante los meses de verano, dado el carácter turístico de esta zona. El núcleo que aglutina la mayor parte de la población es Cádiz, capital de provincia, con 127200 habitantes, seguido de San Fernando (96155 hab.), El Puerto de Santa María (86288 hab.), Puerto Real (39648 hab.) y, por último, en el extremo norte la localidad de Rota (27918 hab.) [INE, 2008]. Los municipios de la Bahía de Cádiz constituyen la principal aglomeración urbana del litoral sur-atlántico de la Península Ibérica y ocupa un puesto principal en la organización urbana regional de Andalucía. En términos territoriales los municipios de la Bahía de Cádiz representan solamente el 8% de la superficie total de la provincia de Cádiz, sin embargo acoge al 32% de la población total.

A pesar que la mayor parte de la población se encuentra en los núcleos urbanos, también existen áreas residenciales ubicadas en los alrededores de la Bahía, entre las que destacan las urbanizaciones de Fuentebravía,

Vistahermosa, Puerto Sherry y Valdelagrana en la costa de El Puerto de Santa María y la del Río San Pedro en las proximidades de Puerto Real.



**FIGURA II.10.** Mapas esquemáticos de las direcciones de flujo marea creciente (A) y vaciante (B) en la Bahía de Cádiz.

El principal impacto antropogénico de carácter urbano sobre la Bahía de Cádiz durante años ha sido los vertidos de aguas residuales. Actualmente en la provincia de Cádiz, el ochenta por ciento de su población cuenta ya con sistemas de depuración de aguas residuales; la Consejería de Medio Ambiente tiene en proyecto las nuevas depuradoras de Chipiona y Tarifa junto a la nueva de Algeciras. En la Bahía de Cádiz el sistema de depuración de las aguas residuales se encuentra prácticamente consolidado con la presencia de varias plantas depuradoras entre las que se encuentran la EDAR de Cádiz-San Fernando, la EDAR del Puerto de Santa María (EDAR las Galeras) y la EDAR del polígono industrial Trocadero; hay que mencionar la existencia de otras plantas que dan servicio a localidades próximas a la bahía como son la EDAR de Chiclana y la EDAR de Jerez.

Las principales actividades industriales que se desarrollan en el entorno de la Bahía se concentran en los municipios de Cádiz, San Fernando y Puerto Real. La actividad industrial históricamente ligada a la Bahía de



Cádiz ha sido la construcción naval, liderada por la empresa Navantia (antigua Izar y anteriormente *Astilleros Españoles y Bazán*). La principal factoría se encuentra en el término municipal de Puerto Real (Polígono Industrial el Trocadero), aunque también cuenta con otra factoría de menor entidad en la ciudad de Cádiz, en las proximidades de su puerto comercial. Otra factoría se halla en San Fernando, en la zona conocida como *La Carraca*. A finales del siglo pasado la actividad industrial se diversificó con la incorporación de otras industrias que utilizan el metal para la manufactura de componentes de coches y aeronaves, estas actividades industriales se concentran en su mayor parte en los polígonos industriales de la *Zona Franca* (Cádiz) y de *Trocadero y Río San Pedro* (Puerto Real). Recientemente se ha producido el cierre de la industria dedicada a la manufactura de componentes de coches.

Otra característica de la Bahía de Cádiz ligada tanto a sus actividades industriales como al comercio y al sector turístico, lo constituye el tráfico marítimo (comercial, pesquero y recreo), básicamente hacia los puertos de Cádiz (situados en el centro y en la zona franca), Puerto Real (*Muelle del Bajo de la Cabeza en el Pol. Ind. Río San Pedro*), San Fernando (*La Carraca*) y Puerto de Santa María (*Muelle pesquero, Náutico y Puerto Sherry*).

Asimismo, hay que mencionar otra serie de actividades que también pueden ejercer un impacto ambiental significativo. Como es la presencia de explotaciones de acuicultura marina extensiva e intensiva, cuyos efluentes residuales se vierten directamente a las aguas de la Bahía sin tratamiento previo alguno, incrementando los niveles de SS, OD y nitrógeno amoniacal en las aguas y de fósforo en los sedimentos de zonas de marismas del Río San Pedro [TOVAR, 2000], así como en las marismas correspondientes al término de San Fernando, que desaguan al Caño de Sancti Petri.

### **II.1.5. CLASIFICACIÓN DE LAS AGUAS**

---

Al objeto de establecer las limitaciones de vertidos contaminantes, los objetivos de calidad de las aguas litorales afectadas directamente por los mismos y el canon de vertidos, las aguas litorales andaluzas fueron clasificadas en base a la normativa aplicable de la Junta de Andalucía (Orden

de 14 de febrero de 1997) en cuatro grupos: Aguas especiales, aguas limitadas, aguas normales y aguas menos limitadas.

Se consideran como *aguas especiales* aquellas caracterizadas por sus singulares condiciones ambientales, bien por su acusado valor estético o destacado valor ecológico o paisajístico y aquellas en las que se reconoce la importancia de su conservación. Así, se definen como aguas especiales las incluidas dentro de los espacios litorales que presentan alguna figura de protección establecida legalmente, referida tal protección tanto al medio físico como a las especies que constituyen su hábitat en él. No están incluidas en esta clasificación aquellas aguas que aun cumpliendo lo anteriormente establecido, por razones técnico-ambientales se incluyen de forma particular en otro tipo de aguas.

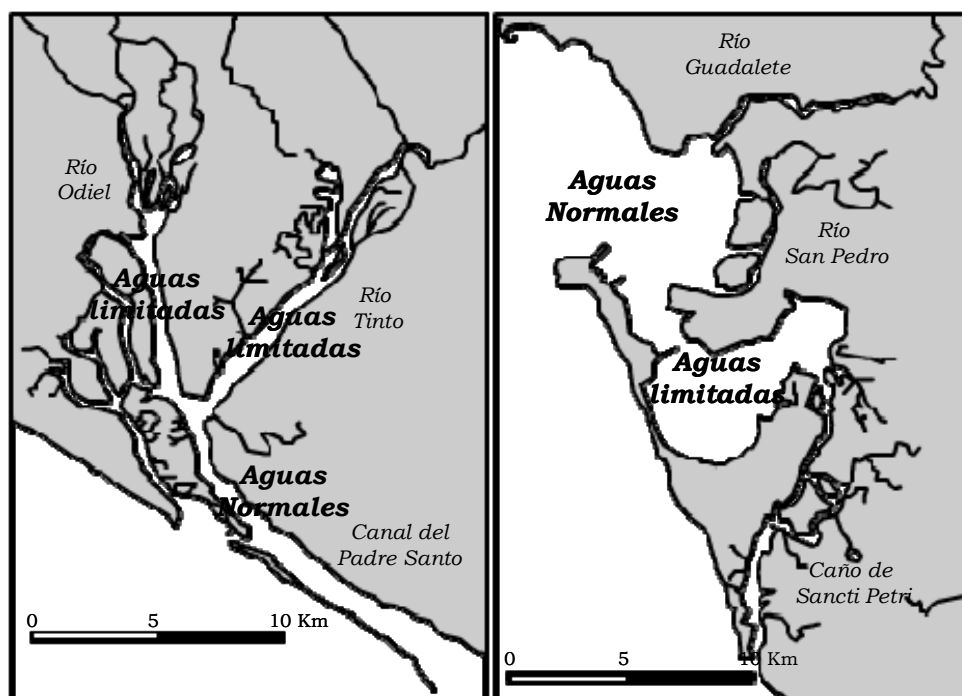
Las *aguas limitadas* son aquellas caracterizadas por sus singulares condiciones ambientales de escasa renovación o por recibir gran cantidad de sustancias contaminantes y nutrientes, lo que puede ocasionar fenómenos de eutrofización, acumulación de sustancias tóxicas o cualquier otro fenómeno que incida negativamente en las condiciones naturales del medio y reduzca sus posibilidades de uso. Se definen como aguas limitadas las aguas de estuarios y bahías cerradas quedando excluidas de esta clasificación aquellas aguas que, aun cumpliendo lo establecido anteriormente por razones técnico-ambientales se incluyen de forma particular en otro tipo de aguas. En particular son consideradas como aguas limitadas las desembocaduras de los ríos hasta dónde es sensible el efecto de las mareas.

Tienen consideración de *aguas normales* aquellas que debido a sus condiciones de renovación y/o a la cantidad de sustancias contaminantes que reciben, pueden verse menos afectadas por fenómenos de eutrofización, acumulación de sustancias tóxicas, etc., no previéndose efectos negativos sobre las mismas y sus usos. Se definen como aguas normales las aguas litorales distintas de las de estuarios, así como las bahías abiertas que se encuentran en la franja costera.

Las *aguas menos limitadas* son aquellas con un intercambio bueno en las que se considera que es altamente improbable que lleguen a desarrollarse fenómenos que afecten a las mismas y a sus usos. Se definen como tal las aguas interiores y del mar territorial situadas entre la línea de base recta que

define el límite exterior del mar territorial y las líneas que difieren de las aguas especiales y normales.

Según esta normativa, el tramo correspondiente al *Canal del Padre Santo* recibe la clasificación de *Aguas Normales*. Sin embargo, a partir de la Punta del Sebo y aguas arriba, el Río Tinto y el Río Odiel reciben la clasificación de *Aguas Limitadas*. Esta clasificación se debe a la limitada renovación de las aguas de los ríos Tinto y Odiel, por lo que se permite que el nivel de concentración de contaminantes en las aguas sea superior al de las aguas del Canal del Padre Santo, donde el grado de renovación es mayor por su proximidad a la desembocadura de la Ría. Por su parte la Bahía de Cádiz recibe la clasificación de *Aguas limitadas* y la bahía exterior puede considerarse como de *Aguas normales* (**Figura II.11**).



**FIGURA II.11.** Clasificación de las aguas de la Ría de Huelva y de la Bahía de Cádiz.

### **II.1.6. PUNTOS DE MUESTREO**

---

La toma de muestras constituye una de las etapas más importantes en el proceso de resolución de problemas analíticos. Así, la forma como se diseña y ejecuta la toma de muestra determina el grado de adecuación de la interpretación de los resultados finales de un análisis, respecto de los fines establecidos para la población objetivo. Para la obtención de unos resultados analíticos de calidad es necesario, entre otros aspectos, que el procedimiento de toma de muestra permita la obtención de una muestra representativa del problema analítico planteado y que el conjunto de éstas sean representativas de la población estudiada.

En general, el objetivo de la toma de muestras (control de laboratorio) es la extracción de una porción de material de población, cuyo volumen sea lo suficientemente pequeño, para que pueda ser transportada con facilidad y manipulada en el laboratorio sin que por ello deje de representar adecuadamente al material de donde procede. Este objetivo implica que la concentración relativa de todos los componentes será la misma en las muestras que en la población objetivo y éstas serán tratadas de tal forma que no se produzcan alteraciones significativas en su composición antes de que se realicen las pruebas correspondientes.

En el caso de los sistemas naturales, esta etapa adquiere aún más importancia, ya que implica hacerlo bajo ciertos criterios según la información que se desee obtener tanto desde un punto de vista espacial como temporal. Evidentemente, cuanto mayor sea el número de estaciones y frecuencia en que se muestrea, mayor será el nivel de probabilidad que se puede alcanzar en el estudio. Sin embargo, cuanto mayor es el número de muestras recogidas, paralelamente aumenta también el tiempo y coste del análisis, sin que por ello se obtenga, en muchos casos, más información significativamente relevante.

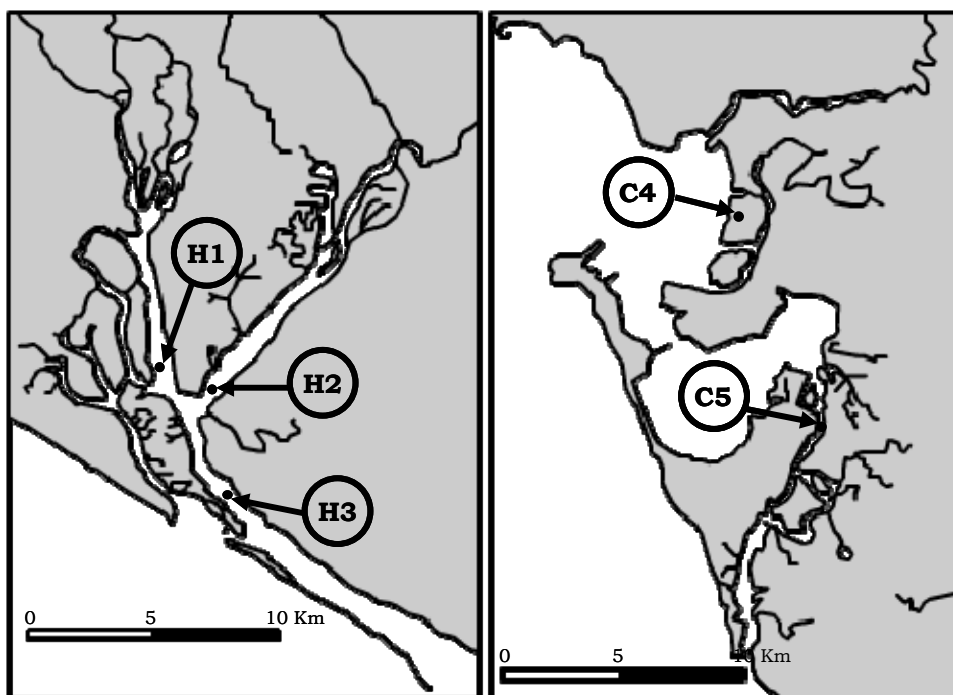
Para la realización de este estudio y la consecución de los objetivos en él planteado se han elegido cinco puntos de muestreo que previsiblemente representan situaciones distintas de contaminación con características naturales y antrópicas diferentes:

- Una situación de contaminación prácticamente nula prevista en el estero “Desamparados” (C4), ubicado en el caño del Río San Pedro

dentro del espacio protegido del Parque Natural de los Toruños, antigua marisma reconvertida a la acuicultura.

- La estación de muestreo situada en el Río Odiel frente a la factoría “Atlantic Cooper” (H1) y la situada en el Río Tinto frente al “muelle de la Rábida” (H2) representan una situación de alta contaminación metálica, con un origen natural significativo.
- Una situación de contaminación de origen antrópico debido a la actividad industrial, prevista en el Canal del Padre Santo frente a la refinería la Rábida (H3).
- Una situación de contaminación urbana prevista en el Caño de Sancti Petri a su paso por el Puente Zuazo (C5), donde se ubicaba el vertido de los efluentes urbanos de la ciudad de San Fernando hasta el 2002.

En la **Figura II.12** se muestra la localización de los puntos de muestreo. Las campañas de toma de muestras se han planificado para estudiar la variabilidad espacio-temporal relacionada con los ciclos biológicos. Así, se realizaron cuatro campañas durante dos años consecutivos, tomando las muestras en el periodo de otoño-invierno y en el de primavera-verano.



**FIGURA II.12.** Puntos de muestreo de la Ría de Huelva y de la Bahía de Cádiz.

En la **Tabla II.2** se recogen la nomenclatura, coordenadas geográficas y muestras tomadas en cada una de los puntos de muestreo seleccionadas. En la **Tabla II.3** se indican las fechas en las que se han llevado a cabo las distintas campañas de toma de muestra. La pequeña variación de fechas para cada campaña de muestreo fue debida a la disponibilidad de embarcación en los puntos de Huelva y la posibilidad de acceso al estero privado de los Desamparados.

**TABLA II.2.** Localización geográfica de los puntos de muestreo en la Ría de Huelva y la Bahía de Cádiz.

| ESTACIONES            | CÓDIGO | COORDENADAS   |              | CAMPAÑAS |    |    |    |
|-----------------------|--------|---------------|--------------|----------|----|----|----|
|                       |        |               |              | 1ª       | 2ª | 3ª | 4ª |
| Odiel                 | H1     | 37° 13.850' N | 6° 57.601' W | •        | •  | •  | •  |
| Tinto                 | H2     | 37° 12.970' N | 6° 56.058' W | •        | •  | •  | •  |
| Canal del Padre Santo | H3     | 37° 09.333' N | 6° 55.020' W | •        | •  | •  | •  |
| Desamparados          | C4     | 36° 34.120' N | 6° 12.390' W | •        | •  | •  | •  |
| Puente Zuazo          | C5     | 36° 27.570' N | 6° 11.170' W | •        | •  | ×  | •  |

•: punto muestreado

×: punto no muestreado

**TABLA II.3.** Fecha de las campañas de muestreo llevadas a cabo en la Ría de Huelva y la Bahía de Cádiz.

| CÓDIGO | CAMPAÑAS   |            |            |            |
|--------|------------|------------|------------|------------|
|        | 1ª (O-I)   | 2ª (P-V)   | 3ª (O-I)   | 4ª (P-V)   |
| H1     | 07/10/2004 | 12/04/2005 | 27/10/2005 | 03/05/2006 |
| H2     | 07/10/2004 | 12/04/2005 | 27/10/2005 | 03/05/2006 |
| H3     | 07/10/2004 | 12/04/2005 | 27/10/2005 | 03/05/2006 |
| C4     | 22/11/2004 | 27/05/2005 | 10/10/2005 | 12/09/2006 |
| C5     | 20/01/2005 | 29/06/2005 | ×          | 19/05/2006 |

## **II.2. NATURALEZA DE LAS MUESTRAS**

---

El estudio del comportamiento de los metales en los ecosistemas acuáticos tiene hoy en día una gran relevancia, debido a la elevada toxicidad de un buen número de ellos y a su comportamiento acumulativo. Estos elementos no son biodegradables y sufren un ciclo eco-biológico en el que las aguas naturales constituyen las principales vías de transporte.

Para realizar el estudio del comportamiento de los metales en los ecosistemas acuáticos seleccionados, se ha procedido a la toma y análisis de distintos tipos de muestras: agua, sedimento y biota. Dentro de este último tipo se han seleccionado dos especies de interés comercial: dorada "*Sparus aurata*" y lenguado "*Solea senegalensis*".

### **II.2.1. AGUA**

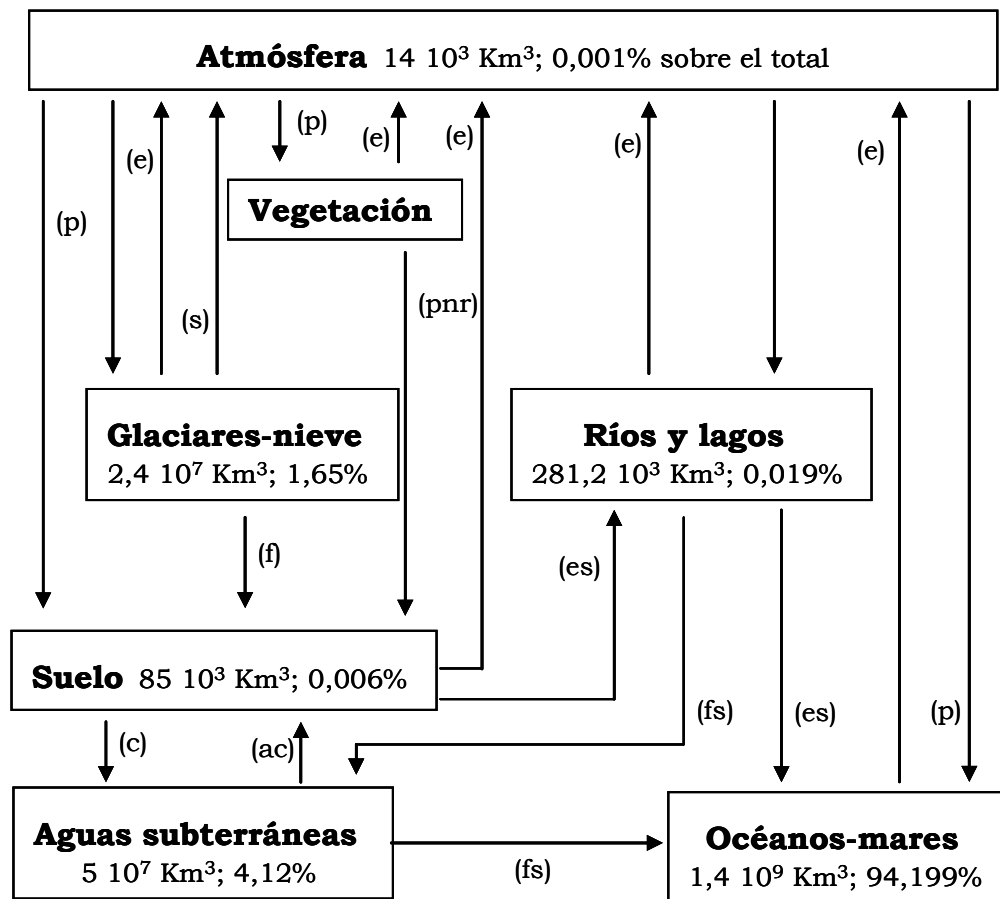
---

El agua es una sustancia esencial tanto para la vida como para la propia civilización humana, vehículo idóneo donde se desarrollan las complejas reacciones bioquímicas que hacen posible el desarrollo de la actividad vital de cualquier ser vivo. Además, se trata probablemente del único compuesto que se puede encontrar en nuestro planeta en los tres estados físicos de agregación de la materia, en cantidad considerable. Se cifra el total de agua en la Tierra en unos 1400 millones de Km<sup>3</sup>, de los cuales un 3% del total corresponde a agua dulce.

La provisión global de agua en la Tierra es invariante desde hace miles de millones de años, estando sometida al denominado *ciclo hidrológico*. Éste consiste en una serie de cambios de fase, de características físicas, químicas, y microbiológicas, e incluso de emplazamiento físico (mares, nubes, glaciares, ríos, aguas subterráneas) cuyo último efecto es la "renovación" periódica de la dotación de agua en las grandes acumulaciones o depósitos ya existentes en el planeta: océanos, ríos, lagos, atmósfera y litosfera.

El motor del *ciclo hidrológico* es la radiación solar recibida por nuestro planeta que provoca la evaporación de cantidades ingentes de agua desde la superficie libre de los océanos y mares (especialmente) hasta la atmósfera,

desde donde revierte depositándose bajo forma de lluvia (**Figura II.13**). En el ciclo además, intervienen otros factores como son la evaporación de agua desde el propio terreno, la evaporación-transpiración de plantas y seres vivos, e incluso, el balance entre la detracción y el aporte de aguas usadas por el hombre [MARÍN GALVÍN, 2006].



**FIGURA II.13.** Ciclo hidrológico. Principales flujos implicados: (p) precipitación; (e) evaporación; (f) fusión; (ac) ascenso capilar; (es) escorrentía; (fs) flujo subterráneo; (s) sublimación; (pnr) lluvia no retenida por la vegetación.

La acción del agua sobre los minerales y rocas (también sobre los gases) da lugar a una dinámica o evolución de los elementos químicos y sus compuestos bien complejos en su seno. Existen dos factores físicos que son de particular importancia en la composición de las aguas naturales [BRICKER y JONES, 1995]:



- el tiempo de residencia: cuanto mayor sea el tiempo que el agua permanece en contacto con un determinado material tendrá más oportunidades de interactuar con dicho material.
- los caminos o rutas que sigue el agua en el sistema: estos caminos determinan las características de los materiales con los que el agua interactúa.

Así, la composición de las aguas naturales está dominada principalmente por la atmósfera y las rocas que forman la corteza terrestre. A pesar de ello no hay que olvidar el papel que realiza la biota que interviene física y químicamente en multitud de reacciones que tienen lugar en el medio acuático. Así pues, dentro de los factores naturales que afectan a la composición de las aguas se podría hablar de tres tipos de factores: atmosféricos, geológicos y biológicos.

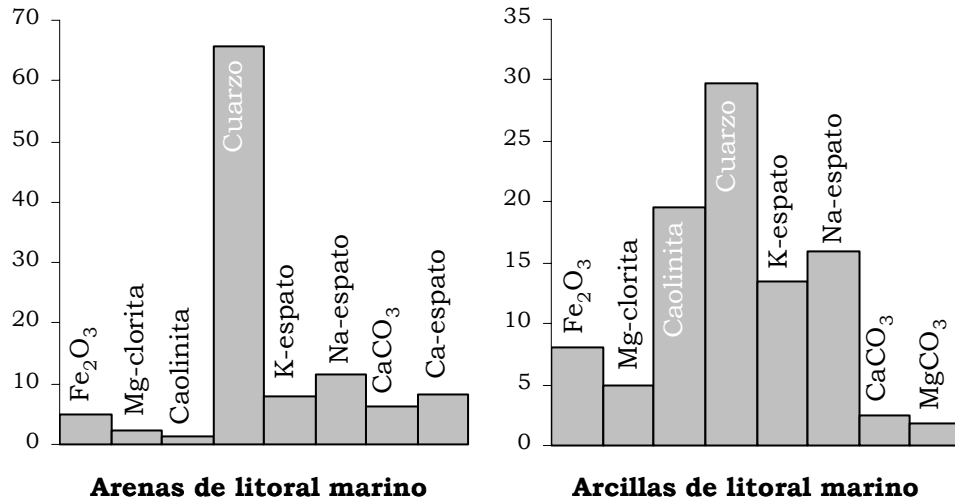
### **II.2.2. SEDIMENTO**

---

Sedimentos son los materiales procedentes de la destrucción de las rocas de la superficie terrestre por la meteorización, la erosión o ambos y que son depositados a veces in situ, o más frecuentemente, a distancia, después de ser transportados por un agente geológico externo como el viento, el hielo o el agua. La sedimentación puede consistir en el simple depósito de partículas por gravedad, o puede intervenir en procesos químicos como la precipitación de sustancias a partir de disoluciones, o incluso biológicos como en los sedimentos de origen orgánico. Los sedimentos se pueden considerar como una mezcla heterogénea de partículas con tamaños, composiciones y orígenes diversos. En relación al tamaño se suelen distinguir dos tipos de partículas: finas (con un diámetro menor o igual que  $63\ \mu\text{m}$ ), que a su vez se subdividen en limo ( $2\text{--}63\ \mu\text{m}$ ) y arcilla ( $<2\ \mu\text{m}$ ), y gruesas (con un diámetro que supera las  $63\ \mu\text{m}$ ), que se subdividen en arena fina ( $>63\text{--}200\ \mu\text{m}$ ), arena media ( $>200\text{--}630\ \mu\text{m}$ ) y arena gruesa ( $>630\ \mu\text{m}$ ).

Estos dos grupos difieren en sus propiedades mineralógicas, morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas. Las partículas gruesas son, en general, redondeadas y contienen principalmente cuarzo con mezclas de feldespato, mientras que las finas, con formas y tamaños diferentes, tienen una composición más variada, en la que podemos encontrar arcilla mineral,

materia orgánica, granos finos de cuarzo, carbonatos, partículas de feldespato, etc. Estas diferencias se pueden observar en la **Figura II.14**, en la que se ha representado la composición mineral media de arenas y arcillas marinas [USERO GARCIA y col., 2000].



**FIGURA II.14.** Composición mineralógica media (en %) de arenas y arcillas marinas.

En función de su origen se distinguen tres tipos de componentes en los sedimentos: detríticos (formados por fragmentos procedentes de la meteorización de rocas y minerales), biogénicos (procedentes de esqueletos y tejidos orgánicos muertos) y endogénicos (originados por la sedimentación de partículas o tras la precipitación en el agua de compuestos inorgánicos, tales como carbonatos, sulfuros, oxihidróxidos de hierro y manganeso, etc.).

La composición granulométrica del sedimento en la Ría de Huelva es la esperada en un sistema de estas características, de forma que en los ríos Odiel y Tinto predominan gravas cuarcíticas que pueden alternar con arenas gruesas en las zonas profundas del canal, o con limos arenosos en las zonas someras del mismo. La zona central del estuario muestra una alternancia de arenas fangosas con fangos negros debido a la interacción de las fluctuaciones de los caudales fluvial y mareal. En la zona de la desembocadura aparecen lechos de acumulaciones de conchas con matriz arenosa y arenas limpias sin bioturbar, de grano grueso, que hacia las zonas someras se vuelven de grano

medio fino [GABRIEL PENDÓN y MORALES, 1997; SÁNCHEZ MOYANO y col, 2005].

La Bahía de Cádiz tiene un sustrato rocoso constituido por arcillas, arenas, areniscas y conglomerados del Mioceno Superior al Pleistoceno, sobre los que yacen otros más recientes, fangos de marisma, arenas de playa y gravas. Los sedimentos del fondo son siliciclásticos, con un contenido en carbonatos (25%) de origen bioclástico. En cuanto a su distribución granulométrica, en la Bahía interior predominan los fangos arcillosos, mientras que en la Bahía exterior la arena es la fracción dominante, apareciendo grava cerca de los bajos costeros y fango frente a la desembocadura de los ríos y caños mareales. El mineral mayoritario es el cuarzo, con contenidos que oscilan entre el 85% en las zonas arenosas y el 25% en las fangosas. Le siguen los filosilicatos con contenidos medios del 10% en la Bahía exterior y del 30% en la interior y, por último, los feldespatos, con cantidades inferiores al 10% [GUTIÉRREZ y col., 1997].

---

### **II.2.3. MUESTRAS BIOLÓGICAS**

---

En general, la fauna marina se organiza en tres grupos en función de la zona donde viven [ARTOLACHIPI ACERO y CUBERO, 2006]:

**Pelágicas:** engloba a los animales capaces de nadar activamente a una velocidad que les permite ir contra corriente, pudiendo efectuar desplazamientos verticales y horizontales e incluso realizar largas migraciones. Es un nivel constituido por invertebrados marinos (cefalópodos y de determinados crustáceos decápodos) y vertebrados marinos, mamíferos marinos y peces adultos. La ictiofauna está formada principalmente por pequeños pelágicos planctívoros (boquerones y sardinas) y sus predadores (lubina, caballa, atunes blanco y rojo, pez espada, etc.)

**Nectobentónicas o demersales:** son especies ligadas al fondo, ya sea porque encuentran sus posibles presas en el fondo o bien porque encuentran en el bentos refugio ante posible depredadores. Son animales generalmente carnívoros adaptados a desplazamientos rápidos y cortos. Su coloración suele ser mixta entre la típica de las especies pelágicas y la críptica de los organismos bentónicos. Fundamentalmente se distingue una ictiofauna de

hábitos alimenticios carnívoros, cuerpo fusiforme y con vejiga natatoria (merluza, hurta, voraz, pargo, etc.), cefalópodos (choco, choquito, calamar, etc.) y crustáceos (gamba, langostino, bogavante, etc.).

Bentónicas: son aquellas especies fuertemente ligadas al fondo, en el que se pasan gran parte de su vida, siendo muy limitados los desplazamientos sobre él. Suelen ser especies territoriales, solitarias y con características morfológicas adaptadas a este modo de vida (colores crípticos para camuflarse en el fondo, estructuras especializadas en la sujeción al sustrato, ausencia de vejiga natatoria y cuerpo aplanado en los peces, etc.). Destaca la presencia de ictiofauna (rodaballo, lenguado, acedía, diversas especies de rayas, etc.), cefalópodos (pulpo), crustáceos (galera, centollo, buey de mar, etc.) y gasterópodos (cañailla, bigaro, etc.) ya en los fondos cercanos a la costa.

En este trabajo se han seleccionado dos especies de peces que poseen un gran valor económico en la zona de estudio. Una especie pelágica *Sparus aurata* y una bentónica *Solea senegalensis*.

#### II.2.3.1. DORADA “*Sparus aurata*”

Actualmente, la dorada es el principal producto de la acuicultura mediterránea. La dorada (*Sparus aurata*) es un teleósteo perteneciente a la familia *Sparidae* y orden Perciformes conformado por 29 géneros y unas 100 especies. Es una especie muy común en el Mediterráneo, que se extiende también por el Mar Negro, el Mar Rojo y las costas orientales del Océano Atlántico, desde Inglaterra hasta las costas de Mauritania [CALDERER REIG, 2007].

Esta especie pelágica posee un cuerpo oval comprimido lateralmente característico de la familia a la que pertenece, asimismo su cabeza es especialmente robusta y con un perfil algo convexo. Sin embargo, la boca de las doradas es pequeña, cuenta con mandíbulas poco extensibles y con labios gruesos. En la parte inferior de la boca se encuentran de 4 a 6 dientes caninos, mientras que en su parte posterior se sitúan los potentes dientes molares (BAD PERIRED, 2004). Esta boca les permite romper el caparazón de conchas y crustáceos base de su alimentación (COLL, 1991; MOJETTA y col., 1994). El dorso de la dorada es gris plateado mientras que su vientre presenta una tonalidad blanquecina, asimismo sus flancos muestran ligeros reflejos amarillos. Aunque quizás su característica más distintiva y por la que recibe

el nombre de dorada, sea la mancha dorada que posee entre sus pequeños ojos, además de otra mancha negra que se puede observar en el origen de la línea lateral, extendiéndose sobre el margen superior del opérculo. A menudo presentan líneas longitudinales oscuras sobre los costados del cuerpo, además de una banda también oscura sobre la aleta dorsal (FAO, [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus\\_aurata\\_es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata_es)) (**Foto II.1**).



**Foto II.1.** *Sparus aurata*.

Se trata de una especie típicamente litoral, euriterma (5-32°C de temperatura) y eurihalina (4-70% de salinidad) que se puede encontrar hasta profundidades de 90 m. Los alevines y juveniles viven próximos a la costa, penetrando frecuentemente en las desembocaduras de los ríos y lagunas litorales, sobre todo en primavera y verano, donde encuentran mejores condiciones para su alimentación. En otoño migran hacia el mar abierto, en especial los individuos maduros para la reproducción. Se dispersan en las zonas costeras, alcanzando fondos marinos comprendidos entre 25 y 50 m en busca de condiciones más estables y temperaturas menos extremas. Su dieta natural es preferentemente carnívora, depredadora de especies de fondo, en especial moluscos (bivalvos y gasterópodos), crustáceos, vermes y pequeños peces. Con un crecimiento muy variable en función de su localización, se pueden considerar que crecen mucho más rápido en zonas semicerradas y salobres, como esteros y lagunas, que en zonas abiertas. En general, se la

considera una especie de crecimiento rápido en la naturaleza. Se captura principalmente en otoño cuando migra de las lagunas costeras hacia el mar.

La dorada es una especie hermafrodita proterándicra. En el mes de septiembre se inicia la maduración, que se prolonga a lo largo del mes de octubre. En noviembre tiene lugar la freza, que puede abarcar un periodo largo, ya que el desove de cada hembra se produce escalonadamente durante varias semanas; a partir de abril el único estado presente es el de reposo permaneciendo así hasta el mes de septiembre siguiente. Esta especie efectúa la primera freza a los dos años de edad cuando el animal alcanza un tamaño de 250-300 g de peso total (unos 22 cm de longitud) como macho. Seguidamente se inicia la transformación en hembra no afectando a la totalidad de los individuos, sino que una parte de ellos mantiene el sexo masculino, pudiendo presentarse el cambio después de frezas sucesivas. En este último caso, estos machos ralentizan enormemente su crecimiento. Para estimular el cambio de sexo, conviene que los jóvenes machos no estén en presencia de hembras, pues éstas inhiben el proceso. En cualquier caso, todos los animales con más de 2 kg de peso son hembras. Durante los meses de máxima actividad reproductora (de septiembre a diciembre) el crecimiento se detiene, incluso se pueden producir pérdidas de peso. La freza es bentónica (entre 5 y 35 m) y se produce cerca de la costa. En aguas del mediterráneo la época de puesta abarca desde finales de noviembre hasta finales de enero, y en la Bahía de Cádiz hasta marzo. Es decir, cuando el fotoperíodo es corto y la temperatura desciende por debajo de los 19°C, interrumpiéndose por debajo de los 14°C. Cada hembra puede llegar a producir hasta 1000000 de huevos plantónicos por kg de peso, de un diámetro de 0,8-1 mm. La larva recién eclosionada mide escasamente 1 mm y permanece pelágica durante dos meses tras los cuales se produce la metamorfosis [CALDERER REIG, 2007].

#### II.2.3.2. LENGUADO “*Solea senegalensis*”

El lenguado “*Solea senegalensis*” pertenece a la familia de los Soléidos, que comprende unos treinta géneros (todos ellos dextrógiros) de cuerpo oval y alargado, con la cabeza redonda y poco saliente, caracterizados por poseer un hocico redondo y carnoso, con una pequeña boca arqueada y que se abre hacia abajo, sin dientes palatinos; la mandíbula superior está más desarrollada que la inferior. Los ojos son muy pequeños y próximos y se sitúan en el flanco derecho. Las escamas del tronco continúan por la cabeza.

La especie *Solea senegalensis*, perteneciente a la fauna bentónica, se caracteriza por tener el tubo nasal anterior del lado ciego alejado del borde cefálico; la aleta pectoral derecha redondeada y subsimétrica con una membrana interracial negra, el último radio de las aletas dorsal y anal está unido al pedúnculo caudal por una membrana y la aleta dorsal se inicia por delante del ojo dorsal. La coloración de fondo del lado ocular es variable, adaptándose miméticamente al entorno predominante en el sustrato: normalmente varía de un marrón verdoso oscuro a un marrón rojizo claro, casi anaranjado; presenta ocelos de color azul de tamaño variable, dispuestos en filas longitudinales, a veces no muy claros, que desaparecen rápidamente con la muerte del animal; manchas marrón oscuro dispuestas en la línea media del cuerpo, de tamaño mediano, y otras más pequeñas en filas transversales. Los ojos son de color verde metálico en vivo (**Foto II.2**).

La distribución geográfica de la especie *Solea senegalensis* se limita a la costa oeste africana y a la costa europea del Atlántico y Mediterráneo Occidental. En el Atlántico, se extiende desde Senegal hasta la península Escandinava. En el Mediterráneo, se localiza en el sur de España y al norte de Túnez.

El lenguado "*Solea senegalensis*", es un teleósteo con sexos separados, sin caracteres sexuales externos diferenciales, madurando por primera vez entre el tercer y cuarto año de vida (25-30 cm de longitud). El índice de fecundidad de la hembra, en la naturaleza, alcanza el millón de óvulos por kilogramos. La época de puesta se sitúa entre marzo y abril, pudiendo extenderse hasta el mes de junio. Los huevos miden entre 0,9 y 1,5 mm, son pelágicos y la temperatura del agua durante la época de puesta suele ser superior a 16°C. La larva pelágica y simétrica, durante los dos primeros años, mide en el momento de la eclosión entre 2,5 y 3,1 mm. Las larvas en la naturaleza (10-15 m de profundidad) son arrastradas por las corrientes hacia la costa, realizan la metamorfosis (se vuelven disimétricas) y descienden hasta el fondo. Los lenguados cultivados miden  $16,6 \pm 2,1$  cm y pesan  $40,3 \pm 2,5$  g, un año después de la eclosión. Son animales de hábitos básicamente nocturnos, predadores bentónicos (anélidos, moluscos) viven enterrados en la arena durante el día, y su ritmo de crecimiento es regular teniendo unos 300 g y 30 cm al tercer año, pudiendo alcanzar una talla máxima de 60 cm y 800 g de peso [ARELLANO y col., 2005].



**Foto II.2.** *Solea senegalensis*.

### **II.3. MATERIAL Y MÉTODOS**

---

En este capítulo se describirá la metodología analítica empleada en el estudio de la distribución y biodisponibilidad de metales, englobando bajo el término metodología todas las etapas experimentales del método analítico, desde la etapa de toma de muestra hasta el análisis de analitos (metales), incluyendo así mismo, el material e instrumentación utilizada. Además, dado que los metales objeto de estudio se encuentran principalmente como elementos trazas en las aguas, cobran especial importancia los protocolos de limpieza del material utilizado y el empleo de técnicas limpias en la etapa de toma de muestra y durante las determinaciones de los distintos parámetros.

#### **II.3.1. METODOLOGÍA DE LA TOMA DE MUESTRAS**

---

La toma de muestra en las estaciones de Huelva se realizó desde embarcaciones de recreo y pesca contratadas con este fin. Para minimizar la contaminación en la etapa de muestreo, la toma de muestra se realizó desde la proa del barco para mantener el equipo lo más alejado posible de los gases de combustión de los motores. En los puntos de muestreo situados en la Bahía de Cádiz y debido a la naturaleza del terreno, la toma de muestra se realizó desde tierra.



Durante la toma de muestra se determinaron “in-situ” los siguientes parámetros: pH, temperatura, salinidad y oxígeno disuelto mediante el empleo de una sonda multiparamétrica. Igualmente se registraron las condiciones meteorológicas de la zona de estudio.

#### II.3.1.1. MUESTRAS DE AGUA

Las muestras de agua se tomaron mediante un tubo de teflón (tubo 6429-25 de Cole-Parmer Instrument Co. Illinois U.S.A ) acoplado a una bomba peristáltica (Masterflex 7521-00, cabezal 07518-10, Cole-Parmer (EE.UU.)) siguiendo el protocolo “*manos sucias-manos limpias*”, para el cual se requirió la colaboración de tres personas: una de ellas sostenía una pértiga telescópica de 4 m a la que se había sujetado el tubo de teflón y su cometido era mantener el extremo de entrada de agua en las aguas superficiales y lo más lejos posible de la embarcación para que no se viera afectada por la contaminación emitida por ésta, las otras dos personas fueron las encargadas de realizar la toma de muestra propiamente dicha. La primera de ellas, *manos sucias*, debía sostener el extremo de salida del agua y facilitar el material que iba a ser utilizado en cada momento, así como realizar las operaciones de encendido y apagado de la bomba peristáltica empleada para succionar el agua. La otra persona, *manos limpias*, debía mantener el mínimo contacto con todo el material del barco y solo tomaba los recipientes en los que se iba a recoger la muestra utilizando doble guante de plástico en todo momento. En la **Foto II.3** se muestra el procedimiento de la toma de muestra de agua.

En cada punto de muestreo todo el sistema de bombeo se enjuagó durante unos minutos con el agua antes de tomar la muestra definitiva. Antes de la toma de muestra de agua, la botella se enjuagó cinco veces con un poco del agua que se estaba muestreando. Las muestras de agua que así lo precisaban se filtraron in situ a través de filtros de membrana de 0,45 micras de tamaño de poro conectados en línea con la bomba y el recipiente recolector. El agua se depositó en las botellas de toma de muestra, que se cerraron e introdujeron en dos bolsas de plástico de cierre hermético. Las botellas se conservaron en neveras de plástico refrigeradas con bloques de hielo hasta su llegada al laboratorio. El protocolo para la toma de muestras de agua venía determinado por el esquema de especiación que se aplicó en el análisis de los metales y que hizo necesario que en cada punto de muestreo se tomaran las siguientes muestras:

- Se tomaron dos muestras de agua de 500 mL sin filtrar. A la llegada al laboratorio se separaron 300 mL de la primera muestra y se acidificaron con  $\text{HNO}_3$  (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) hasta una concentración de  $2 \text{ mL L}^{-1}$ , en condiciones limpias. Los 200 mL restantes fueron utilizados para filtrar dos porciones de un volumen conocido de agua de aproximadamente 100 mL en filtros de acetato celulosa con la utilización de la bomba peristáltica, esto filtros se emplearon para obtener el contenido de As en la materia suspendida. La segunda muestra se utilizó para calcular el contenido en materia orgánica de la materia suspendida. A la llegada al laboratorio se trasvasaron aproximadamente 300 mL a otro bote limpio y se taró. A continuación, se filtraron dos porciones de aproximadamente 100 mL de muestra con la bomba de vacío empleando filtros de nylon que previamente se habían secado y tarado, se volvió a pesar la botella después de cada filtrado para calcular el agua a que se referían los filtros. Estos filtros de nylon se emplearon para calcular el contenido de materia orgánica de la materia suspendida. Con el agua restante se calculó la densidad del agua empleando para ello matraces de 10 mL tarados y secos.
- Se tomaron cuatro muestras de agua de 500 mL filtradas in situ. A la llegada al laboratorio, se acidificó la primera de las muestras con  $\text{HNO}_3$  (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) hasta una concentración de  $2 \text{ mL L}^{-1}$ . La segunda muestra se acidificó con  $\text{HCl}$  (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) hasta una concentración de  $2 \text{ mL L}^{-1}$ . A la tercera muestra se le adicionó 10 mL de disolución reguladora de ácido acético-acetato de concentración  $3 \text{ mol L}^{-1}$  y pH de 4,6. A la última muestra no se le añadió ningún reactivo.

Todas las muestras se congelaron inmediatamente para su conservación, a excepción de las muestras que fueron acidificadas, las cuales se dejaron aproximadamente dos semanas a temperatura ambiente para que el ácido pudiera lixiviar los metales que podían haberse adsorbido en las paredes del recipiente de plástico antes de ser congeladas para su conservación.



**Foto II.3.** Procedimiento de toma de muestras de agua.

#### II.3.1.2. MUESTRAS DE SEDIMENTO

Las muestras de sedimentos se tomaron con ayuda de una draga tipo Eckman-Birdge y se depositaron dentro de dos bolsas de plástico de cierre hermético (**Foto II.4**). Las muestras de sedimento al igual que las muestras de agua se conservaron en neveras de plástico refrigeradas con bloques de hielo hasta su llegada al laboratorio, momento en el que se congelaron hasta que fueron pretratadas y posteriormente analizadas siguiendo el protocolo de especiación.

Para obtener la fracción fina los sedimentos fueron sometidos al siguiente pretratamiento: se sacaron del congelador y se descongelaron en el frigorífico durante una noche, posteriormente se colocaron en vidrios de reloj y se secaron en la estufa a 105°C durante 24 horas. Una vez secos, se tomaron pequeñas fracciones y se molturaron en un mortero de ágata hasta conseguir un polvo muy fino. Por último se emplea un tamiz de nylon de 63  $\mu\text{m}$  de paso de luz de malla para separar la fracción más fina, la cual se almacena en botes de polietileno de 50 mL de capacidad hasta su tratamiento y análisis.



**Foto II.4.** Toma de muestras de sedimento.

#### II.3.1.3. MUESTRAS DE PECES

Los peces fueron capturados mediante redes (trasmallo) (**Foto II.4**). Se mantuvieron con vida hasta que en el muelle pesquero o área de captura fueron diseccionados y donde se les extrajo los tejidos objeto de estudio: branquias, músculo e hígado. Las muestras se conservaron refrigeradas en nitrógeno líquido hasta su llegada al laboratorio. En el anexo **A.3.4**, en la **Tabla A.26**, se muestran el tamaño y peso de los peces capturados en las distintas campañas de muestreo siendo los valores medios de tamaño de  $21,3 \pm 4,3$  y  $23,6 \pm 2,8$  y de peso de  $174,3 \pm 105$  y  $132,9 \pm 49,1$  para dorada y lenguado, respectivamente.



**Foto II.4.** Toma de muestras de peces.

### II.3.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS

---

#### II.3.2.1. METODOLOGÍA DE LOS PARÁMETROS GENERALES

En las muestras de agua se determinaron in situ los parámetros pH, temperatura, salinidad y oxígeno disuelto mediante una sonda paramétrica portátil *Sension 156* (*Hach Co., Estados Unidos*), calibrada previamente en el laboratorio. Igualmente, se evaluaron los siguientes parámetros:

##### a) Materia suspendida

Para su cálculo se filtró a vacío un volumen conocido de agua empleándose filtros de nylon previamente tarados de 0,45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro, a continuación éstos se secaron en una estufa a 60°C hasta peso constante. El contenido de materia suspendida se obtuvo por diferencia entre el peso seco del filtro de nylon antes y después de filtrar el agua.

**b) Materia orgánica en la materia suspendida**

Para obtener el porcentaje de materia orgánica en la materia suspendida se utilizó los mismos filtros de nylon empleados para el cálculo de la materia suspendida. Estos filtros que retenían una cantidad conocida de materia suspendida fueron calcinados a una temperatura de 550°C durante 3 horas. El calcinado se llevó a cabo en un horno Logotherm (Dinamarca) provisto de programa para el control de temperatura (C19). El porcentaje de materia orgánica en la materia en suspensión se calculó a partir de la pérdida de peso observada durante la calcinación.

**c) Carbono orgánico disuelto (COD)**

Las medidas del COD se realizaron sobre muestras de agua filtradas y acidificadas con HCl (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) hasta una concentración de 2 mL L<sup>-1</sup>, empleándose un equipo Shimadzu modelo 5050 A.

**d) Materia orgánica en los sedimentos**

El valor de materia orgánica se obtuvo a partir del contenido en carbono orgánico de los sedimentos multiplicado por el factor 1,724 (coeficiente de Waskman). Para determinar el contenido de carbono orgánico de los sedimentos se realizó una valoración redox en la que previamente el carbono orgánico se oxida con dicromato potásico en presencia de ácido sulfúrico; el exceso de oxidante se valora con sulfato ferroso amónico (sal de Mohr) y la cantidad de carbono orgánico oxidado se calcula a partir de la cantidad de dicromato reducido.

**II.3.2.2. ESPECIACIÓN DE Zn, Cd, Pb, Cu EN AGUA**

El esquema de fraccionamiento en muestras acuosas basado en cambios de pH ha sido muy utilizado en las últimas décadas debido a su simplicidad y aplicabilidad [DUINKER y col., 1977; HASLE y col. 1981; FISCHER y col. 1984; BATLEY, 1987].

El esquema de especiación (**Figura II.15**) aplicado al análisis de las aguas separó las especies en distintas fracciones: lábiles, poco lábiles y no lábiles, diferenciando entre éstas las asociadas a la materia orgánica y las asociadas a la materia inorgánica. Siguiendo este diagrama de especiación se sometieron las distintas muestras de agua a los siguientes pretratamientos y análisis. Todas las muestras se sacaron del congelador y se descongelaron en el frigorífico la noche anterior a ser utilizadas.

D<sub>F</sub> - muestra no filtrada a pH 2

Se realizó un ataque ácido a 45 mL de muestra en reactores de teflón, empleando para ello el siguiente procedimiento:

- Se depositaron 45 mL de muestra en un reactor de Teflón (PTFE) de 150 mL de capacidad (BRAND, 1305 38).
- Se añadieron 0,2 mL de HNO<sub>3</sub> (Merck, calidad Suprapur) y 0,125 mL de HClO<sub>4</sub> (Merck, calidad Suprapur).
- Se cerró el reactor de teflón y se calentó a 120°C en la estufa durante 8 horas.
- Se enfrió a temperatura ambiente.
- La muestra digerida se enrasó con agua desionizada (Milli-Q) hasta 50 mL.
- Las muestras se conservaron en recipientes de poliestireno a 4°C hasta su análisis.

Posteriormente, la muestra fue medida por DPASV (Voltametría de Redisolución Anódica de Pulso Diferencial) a pH 2. Para ello se tomaron 5 mL de la muestra digerida y se ajustó su pH con una disolución de NaOH (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) 0,5 mol L<sup>-1</sup>, enrasando posteriormente a 10 mL con agua desionizada (Milli-Q). En este proceso la muestra sufrió una dilución 1:2.

D<sub>E</sub> - muestra filtrada a pH 2

Se realizó un ataque ácido a 45 mL de muestra de agua filtrada, empleando para ello el procedimiento anteriormente descrito. La muestra se midió por DPASV, ajustando igualmente a pH 2 con NaOH (calidad Suprapur, Merck (Alemania)), tal y como se ha descrito para la muestra no filtrada a pH 2.

D<sub>A</sub> - muestra filtrada a pH natural

La muestra se midió por DPASV directamente, lo antes posible para evitar los equilibrios de adsorción-desorción y precipitación-disolución de los metales.

D<sub>B</sub> - muestra filtrada a pH natural y posteriormente digerida con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y radiación UV

La muestra de agua del apartado anterior se sometió a una doble digestión oxidante con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) y radiación UV para realizar la digestión de la materia orgánica. Así, se tomaron

porciones de 10 mL de agua y se les añadió 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30%. La muestra fue irradiada utilizando una lámpara de mercurio de 550 W durante 2 horas con un *705 UV Digester (Metrohm, Suiza)*. Las muestras digeridas se midieron por DPASV.

D<sub>C</sub> - muestra filtrada a pH 4,6

La muestra de agua acondicionada con la disolución reguladora ácido acético/acetato se midió por DPASV directamente en el menor tiempo posible.

D<sub>D</sub> - muestra filtrada a pH 4,6 y posteriormente digerida con  $\text{H}_2\text{O}_2$  y radiación UV

Se tomaron porciones de 10 mL del agua descongelada, se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y se irradió con lámpara de mercurio de 550 W durante 2 horas. Las muestras digeridas se midieron por DPASV.

La validación del equipo de análisis para las medidas de agua por DPASV, así como los blancos y límites de detección se muestran en los anexos A.1.1 y A.2.1, respectivamente.

A partir de estas medidas se calculó la concentración total, la concentración total del metal disuelto y las distintas fracciones del esquema de fraccionamiento descrito en la **Figura II.15**:

**Metal total**, el contenido total de los metales estudiados en la muestra de agua; se obtuvo a partir del dato D<sub>F</sub>.

**Metal disuelto**, el contenido total disuelto en la muestra de agua de los metales estudiados; se obtuvo a partir del dato D<sub>E</sub>.

**Fase 1 (F1)**, la fracción de los metales disueltos lábiles inorgánicos; se obtuvo a partir del dato D<sub>A</sub>.

**Fase 2 (F2)**, la fracción de los metales disueltos lábiles orgánicos; se calculó como la diferencia D<sub>B</sub>-D<sub>A</sub>.

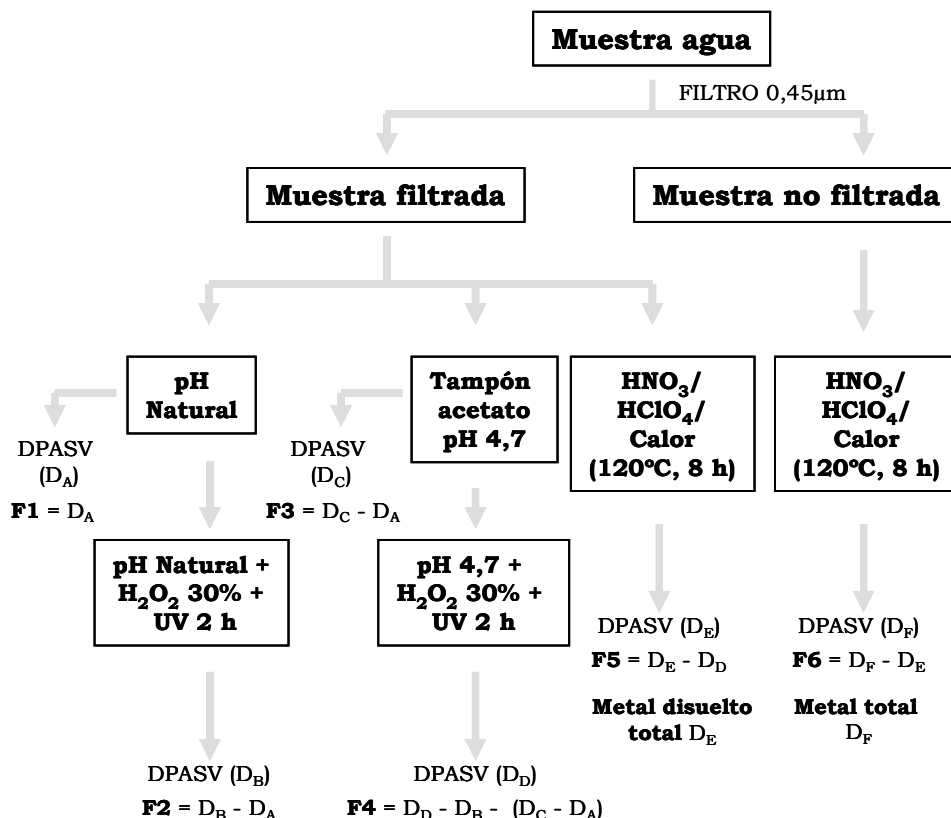
**Fase 3 (F3)**, la fracción de los metales disueltos poco lábiles inorgánicos; se calculó como la diferencia D<sub>C</sub>-D<sub>A</sub>.

**Fase 4 (F4)**, la fracción de los metales disueltos poco lábiles orgánicos; se obtuvo a partir de la expresión D<sub>D</sub>-D<sub>B</sub>-(D<sub>C</sub>-D<sub>A</sub>), correspondiéndose la expresión D<sub>D</sub>-D<sub>B</sub> con el contenido total de los metales disueltos poco lábiles.

**Fase 5 (F5)**, la fracción total de los metales disueltos no lábiles; se calculó como la diferencia D<sub>E</sub>-D<sub>D</sub>.



**Fase 6 (F6)**, El contenido metálico de la materia suspendida; se calculó como la diferencia entre el metal total y el metal total disuelto  $D_F - D_E$ .



**FIGURA II.15.** Esquema de especiación aplicado a los metales Zn, Cd, Pb y Cu en las muestras de agua.

### II.3.2.3. ESPECIACIÓN DE As EN AGUA

La especiación de As en agua se realizó a partir del esquema que se presenta en la **Figura II.16**, el cual separa las especies de As en las siguientes fracciones: particulada, As disuelto inorgánico y As disuelto orgánico.

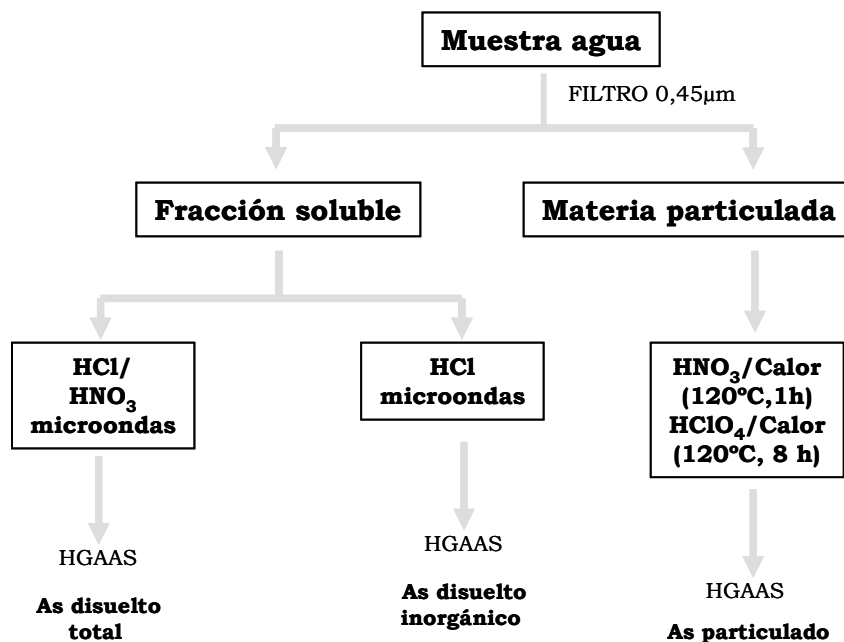
Todos los análisis se realizaron empleando la técnica de Espectroscopía de Absorción Atómica con Generación de Hidruros (HGAAS). El reductor utilizado normalmente es el borohidruro de sodio; la reacción es completa y rápida cuando se trata de la especie inorgánica de As(III), sin embargo en el

caso de As(V) y las especies orgánicas de arsénico la reacción es muy lenta siendo necesaria una reducción previa, para lo cual se utiliza normalmente yoduro de potasio o L-cisteína. Este comportamiento de las especies de As se utilizó para determinar el As disuelto inorgánico y el As disuelto orgánico, siendo este último el que presenta una menor toxicidad en las aguas. Mediante una digestión con un ácido fuerte se mineraliza el As inorgánico disuelto, y con la acción combinada con un ácido fuerte y un ácido oxidante se digiere la materia inorgánica y orgánica de las muestras. Para realizar estas digestiones se realiza el siguiente procedimiento [NIEDZIELSKI y col., 1999]:

- Digestión A- las muestras de agua se acidifican con ácido clorhídrico hasta una concentración al 1% en volumen. Las muestras se digieren mediante microondas y se analizan por HGAAS.
- Digestión B- las muestras de agua se acidifican con ácido clorhídrico y con ácido nítrico hasta una concentración al 1% en volumen para ambos ácidos. Las muestras se digieren mediante microondas y se analizan por HGAAS.

En el primer caso se determina el As inorgánico disuelto, en el segundo caso se analiza el As total disuelto, por diferencia se obtiene el As orgánico disuelto en las aguas.

Para analizar el As particulado se sometió a digestión ácida la materia suspendida retenida en los filtros de acetato celulosa (apartado II.3.1.1). Para ello, los filtros fueron depositados en reactores de teflón añadiéndoles 2 mL de agua desionizada (Milli-Q) y 1 mL HNO<sub>3</sub> al 65%; el reactor cerrado se introdujo durante 1 hora en estufa a 120°C. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar, para evitar la salida de vapores ácidos, durante una hora más antes de añadir 0,5 mL de HClO<sub>4</sub> al 70 %; el reactor cerrado fue introducido, de nuevo, en la estufa calefactora (*Selecta, España*) a 120°C durante ocho horas más. Una vez fría, la muestra fue arrastrada con agua desionizada (Milli-Q) y enrasada a 25 mL. Las muestras digeridas se conservaron a 4°C hasta su análisis por HGAAS.



**FIGURA II.16.** Esquema de especiación aplicado a As en las muestras de agua.

#### II.3.2.4. ESPECIACIÓN DE METALES EN SEDIMENTOS

Para el análisis de los sedimentos se ha aplicado el procedimiento de extracción secuencial para metales traza en sedimentos propuesto por el BCR (Programa de Medición y Ensayo de la Comisión Europea) [URE y col., 1993; DAVIDSON y col., 1999], basado en la extracción con ácido acético (paso 1), cloruro de hidroxilamonio (paso 2), ataque con peróxido de hidrógeno y extracción con acetato amónico (paso 3). Por último, el residuo es tratado mediante digestión ácida para evaluar el contenido metálico total de la muestra.

Con la aplicación del método del BCR se obtienen tres fases líquidas y un residuo sólido, que se corresponden con la *Fase 1 o intercambiable*, la *Fase 2 o reducible* y la *Fase 3 u oxidable*. Como se ha indicado anteriormente en la introducción, cada una de éstas incluyen, respectivamente, los metales en forma de iones solubles e intercambiables los cuales pueden ser liberados por agua y ácidos débiles, la *Fase 2* incluye los metales que son fácilmente reducibles normalmente asociados a los óxidos de hierro y la última fase

incluye aquellos metales asociados a la materia orgánica y sulfhídrica que son fácilmente oxidables. A continuación se describe la metodología empleada en cada una de las fases.

Fase 1 o intercambiable: a 1 g de fracción fina del sedimento seco y molturado se le añadió 40 mL de ácido acético 0,11 mol L<sup>-1</sup> y se extrajo agitando mecánicamente durante 16 horas a 150 traslaciones por minuto. Esta agitación no se demoró una vez añadido el ácido. A continuación se centrifugó durante 30 minutos a 4500 rpm y una temperatura de 4°C, tras lo cual se separó el residuo del extractante mediante decantación. El extractante se conservó a 4°C hasta su análisis. El residuo se lavó con 20 mL de agua desionizada (Milli-Q) agitando durante 15 minutos y centrifugando, se decantó y se rechazó el sobrenadante y, por último, se rompió por vibración para proseguir el análisis.

Fase 2 o reducible: al residuo de la *fase 1* se añadió 40 mL de cloruro de hidroxilamonio 0,1 mol L<sup>-1</sup> (estabilizado a pH 2 con ácido nítrico y preparado recientemente). El procedimiento de lixiviación se realizó tal y como se ha descrito para la anterior fase.

Fase 3 u oxidable: al residuo de la *fase 2* se añadió, con cuidado y en pequeñas cantidades, 10 mL de peróxido de hidrógeno 8,8 mol L<sup>-1</sup>. Se cubrió con un vidrio de reloj y se dejó a temperatura ambiente durante 1 hora, con agitación manual ocasional, tras lo cual se evaporó 1 hora a 85°C, usando un baño de agua, y se redujo el volumen a unos pocos mililitros. Durante la evaporación se tapó la boca del tubo de centrifuga con papel de filtro. A continuación se volvieron a añadir otros 10 mL de peróxido de hidrógeno 8,8 mol L<sup>-1</sup> y se repitió todo el proceso descrito anteriormente. Después se adicionaron 50 mL de acetato amónico 1 mol L<sup>-1</sup> (acidificado a pH 2 con ácido nítrico) al residuo frío y se agitó durante 16 horas a 150 traslaciones por minuto, se centrifugó y se separó el extractante que se conservó a 4°C hasta su análisis. El residuo se lavó como se ha descrito anteriormente y se procedió a realizar su digestión.

Digestión ácida del residuo: El residuo de la *fase 3* se secó en estufa a 105°C durante 24 horas. Se pesaron 0,2 g del residuo seco y se realizó la digestión ácida. Para ello se añadieron 5 mL de HF al 48% para disolver el residuo y se pasó a una placa de teflón, donde se evaporó hasta sequedad con radiación infrarroja. Se volvieron a añadir 5 mL de HF al 48% y se repitió el proceso. A

continuación se repitió el proceso anterior dos veces pero se añadieron en este caso 5 mL de ácido nítrico al 65%. El residuo seco digerido fue extraído con 20 mL de ácido clorhídrico 3,86 mol L<sup>-1</sup> mediante agitación magnética y calefacción durante 1 hora, la disolución obtenida se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se filtró con papel de filtro Albet 1238 lavado a los ácidos lavando varias veces el filtro con agua desionizada (Milli-Q). La disolución filtrada se enrasó hasta 25 mL con agua desionizada (Milli-Q) y se almacenó en recipientes de polietileno a 4°C hasta su análisis.

Para realizar la digestión total del sedimento se pesó 0,2 g de la fracción fina del sedimento seco y molturado y se realizó el mismo procedimiento descrito para la digestión ácida del residuo.

La concentración metálica de cada una de las fases obtenidas en el procedimiento BCR se determinó por Espectroscopía de Absorción Atómica (AAS) y/o Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-AES). La validación del análisis de las muestras de sedimentos, blancos y límites de detección se muestran en los anexos A.1.2 y A.2.2.

#### II.3.2.5. ANÁLISIS DE METALES EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

El interés por el estudio de la contaminación metálica de los ecosistemas acuáticos se debe a la importancia que tiene dicha contaminación por su elevada toxicidad, alta persistencia y rápida acumulación en los organismos vivos. El análisis de los metales en las aguas y sedimentos es el modo más directo para determinar el grado de contaminación en el medioambiente, pero no proporciona información de la influencia y posible toxicidad de este tipo de contaminación en los organismos y del ecosistema. Por ese motivo en las últimas décadas se ha ampliado el estudio al contenido de los metales en los organismos vivos.

La biomonitorización es una técnica científica para la evaluación del medio ambiente, incluida la exposición humana a contaminantes, que se basa en el muestreo y análisis de tejidos y fluidos de un organismo individual. La exposición del organismo al contaminante se puede asociar a marcadores, que pueden ser la concentración del contaminante en el organismo, un producto de degradación de ese contaminante o algunos cambios biológicos que se presenten en el organismo como resultado de la acción del contaminante.

Entre los organismos acuáticos usados como bioindicadores se incluyen algas, macrófitos, zooplancton, insectos, moluscos bivalvos, gastrópodos, peces y anfibios, entre otros. Sin embargo, la aplicación de algunos de estos organismos como bioindicadores es bastante limitada como ocurre con las algas, macrófitos e insectos. Los moluscos bivalvos son utilizados habitualmente en los estudios de biomonitorización, aunque las posibles interacciones entre los diferentes contaminantes en el organismo unido a sus hábitos de alimentación y filtrado intermitente pueden afectar a su capacidad como bioindicadores. Además, la mayoría de los bivalvos viven a lo largo de la costa, lo cual limita su uso en aquellas áreas alejadas de las mismas. Los peces se pueden encontrar prácticamente en cualquier lugar del medio acuático y tienen una gran importancia en los estudios de biomonitorización debido a sus especiales características biológicas, como su tamaño corporal relativamente grande, ciclo de vida largo, son fáciles de capturar y lo más importante los peces están en la cumbre de la cadena alimenticia y pueden afectar directamente a la salud humana, lo cual aumenta su importancia en estos estudios [ZHOU y col., 2008b].

En este trabajo se ha determinado el contenido metálico en tejidos de dos especies de peces que poseen un gran interés económico en la zona, como se ha indicado anteriormente en esta memoria. Los tejidos seleccionados para el estudio han sido el hígado, cuya importancia se debe a su relación con las reacciones metabólicas que ocurren en los peces, el músculo que es la parte del pez que se consume y está ligado por tanto a la biomagnificación de los contaminantes a lo largo de la cadena trófica y las branquias que es un órgano osmorregulatorio en contacto directo con el medio acuático y que sirve, por tanto, como paso y frontera para los contaminantes.

Las muestras de tejidos se liofilizan antes de ser analizadas. La liofilización es un proceso que se emplea en la preparación, preservación y almacenamiento de productos biológicos, farmacéuticos y alimentos. Es un proceso no destructivo que permite una estabilidad óptima de la muestra, una conservación ilimitada y una buena protección contra las influencias externas y nocivas. La liofilización es un proceso por el cual se elimina el agua u otro disolvente del material congelado mediante la conversión directa del agua congelada en vapor, sin la formación intermedia de agua líquida (sublimación).

La metodología de análisis de las muestras biológicas incluye una etapa previa de digestión ácida de la muestra. Las digestiones ácidas de las muestras descritas en la bibliografía científica se pueden clasificar en tres tipos: digestión ácida y calentamiento a presión ambiental [ZHOU y col., 1998; GLADYSHEV y col., 2001; MZIMELA y col. 2003], digestión ácida a alta presión mediante el empleo de reactores de teflón [RASHED, 2001; SOLTAN y col. 2005] y digestión ácida asistida por microondas [AUCOIN y col., 1999; KARADEDE y col., 2000; PYLE y col., 2005]. Para realizar estas digestiones se suele emplear  $\text{HNO}_3$  o una mezcla de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{HClO}_4$  en distintas relaciones de volumen; en los artículos donde se emplea la digestión asistida por microondas se emplea  $\text{HNO}_3$  y en ocasiones se combina con el efecto oxidante de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; para el análisis de mercurio se ha descrito el empleo de una mezcla de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  [STORELLI y col., 2001; MENG-HSIEN, 2002].

En este estudio se ha comparado la digestión ácida a alta presión mediante el empleo de reactores de teflón con la digestión ácida asistida por microondas, las dos aplicadas al estudio de muestras biológicas de referencia de hígado DOLT-3 (dogfish liver, Certificated Reference Material for Trace Metal) y muestra de referencia de músculo DORM-2 (dogfish muscle, Certificated Referente Material for Trace Metals and Elemental Species) procedentes de “National Research Council”, Canadá. Estas muestras de referencia de hígado y músculo son representativas de los tejidos analizados en este trabajo, dado el comportamiento análogo que presenta frente a la digestión las muestras de músculo y branquias. Después de la optimización de las digestiones y a partir de los resultados de la validación (anexo A.1.3) se utilizaron dos métodos de digestión asistida por microondas para los distintos tipos de tejidos biológicos, siendo necesario emplear 4 mL de ácido nítrico y 2 mL de agua oxigenada para las muestras de hígado, con un mayor contenido en grasas, mientras que las muestras de músculo y branquia solo precisaron el empleo de 7 mL de ácido nítrico. Para ello se pesaron porciones comprendidas entre 0,1 y 0,3 g de peso de cada tejido. Para la digestión ácida asistida por microondas se empleó un programa de tres etapas, una primera etapa de 4 minutos a 200 vatios de potencia, una segunda etapa de 5 minutos a 400 vatios de potencia y una tercera etapa de 10 minutos a 600 vatios de potencia, tomándose la temperatura de 200 °C como temperatura de control durante todo el proceso. Después de la digestión con microondas las muestras se dejaron enfriar y se enrasaron hasta 25 mL con agua desionizada (Milli-Q), conservándose en botes de poliestireno hasta su análisis.

Los análisis se realizaron por Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-AES) y Espectroscopía de Masas con fuente de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS), los blancos correspondientes a estos análisis se encuentran en el anexo A.2.3.

#### II.3.2.6. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Con el objetivo de estudiar las diferencias espaciales y temporales en el contenido metálico en agua, sedimentos y peces, así como estudiar las diferencias en el contenido metálico entre las especies estudiadas y tejidos seleccionados se aplicó el análisis de la varianza a los resultados obtenidos. Así mismo, para estudiar la relación existente entre las variables estudiadas se aplicaron análisis de correlación.

Para la realización de estos análisis estadísticos se verificó la hipótesis de normalidad de varianzas mediante el test de Shapiro-Wilk o bien el test de Kolmogorov-Smirnov. El primer estadístico se emplea para distribuciones de datos pequeñas ( $n < 30$ ) mientras que el segundo se utiliza en aquellas distribuciones con un gran número de datos ( $n > 30$ ). Para verificar el supuesto de homogeneidad de las varianzas se utilizaron el test de Levene y el test de Brown & Forsythe. En los casos en los que no se obtuvo normalidad y homocedasticidad se procedió a realizar una transformación logarítmica de los datos, con el fin de conseguir datos normales y homogéneos.

En función del tipo de distribución de los datos, paramétrica o no paramétrica, se han empleado los estadísticos paramétricos del análisis de la varianza de una vía (ANOVA) y el análisis de correlación de Pearson o los estadísticos no paramétricos de Kruskal-Wallis (ANOVA), análisis de comparación múltiple y análisis de correlación de Spearman. El grado de significación empleado en estos análisis ha sido  $p < 0,05$ .

Además, para investigar las posibles semejanzas que existen entre los metales estudiados tanto en agua, como en sedimento y en peces, se aplicó a los resultados el análisis de conglomerados o análisis cluster de tipo jerárquico, que agrupa los grupos de datos en función de su similitud. En el análisis jerárquico se forman cluster de forma secuencial comenzando con el par de objetos más similares y formando clusters más altos a cada paso. Se ha utilizado como método jerárquico el método del vecino más próximo y como medida del grado de similitud la distancia euclídea.



Por último, se realizó un análisis multivariante aplicando para ello un método de N-vías, conocido como método Tucker, el cual será descrito en el capítulo VI de esta memoria.

Para el tratamiento estadístico de los datos de concentración metálica en agua, sedimentos y peces en este trabajo se ha utilizado el programa Statistica 7.0 (stat Soft. Inc., 2004), y para el desarrollo del método Tucker se empleó el programa estadístico Tucker3 ejecutado en el programa MATLAB 6.1 (MATrix LABoratory).

### **II.3.3. PROTOCOLOS DE LIMPIEZA**

---

Un aspecto de gran importancia en los estudios sobre la distribución y comportamiento de elementos traza, y en concreto de los metales pesados, radica en que, dados los bajos niveles de concentración que pueden llegar a presentar, en especial cuando se trata de estudios de especiación en aguas naturales, es necesario tomar singulares precauciones desde el punto de vista analítico para alcanzar resultados seguros, fiables y exactos. Para ello, se ha de prestar especial atención tanto en evitar la contaminación de la unidad ambiental desde su muestreo hasta su análisis, así como en prever la pérdida de analito por una conservación y tratamiento inadecuado de la misma. Esta situación ha quedado constatada por los sucesivos descensos en los datos publicados a medida que han mejorado las técnicas de análisis limpias, invalidando, en ocasiones, los resultados obtenidos antes de mediados de la década de los 70, cuando estas técnicas empezaron a ser consideradas, a la vez que se han mejorado sustancialmente los límites de detección por el desarrollo de nuevos métodos de análisis.

Por estas razones, durante toda la fase experimental se aplicaron condiciones de ultralimpieza [ALLEN, 2000]. En todo momento se trabajó usando doble guante de plástico para el manejo del material, cuya limpieza y mantenimiento requirió de estrictos protocolos. En el laboratorio el tratamiento de las muestras se realizó en atmósfera limpia por medio de campanas de flujo laminar clase 100 (Crumair 9005-FL, con filtro absoluto HEPA, Cruma, España)

#### II.3.3.1. PROCEDIMIENTO GENERAL DE LIMPIEZA DE MATERIAL

Entre las condiciones de extrema limpieza hay que destacar el lavado al que fue sometido todo el material empleado. A continuación se detallan los procedimientos y secuencias de lavado seguidos:

- 1- El material se lava en primer lugar con agua y jabón.
- 2- Tras ser adecuadamente enjuagado con agua corriente, el material se enjuaga una vez más con agua Milli-RO. Posteriormente se lava con  $\text{HNO}_3$  ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ) tanto por fuera como por dentro; para ello se emplean pequeñas porciones de ácido que se hacen pasar por toda la superficie, repitiendo la operación al menos tres veces y el ácido empleado se descarta.
- 3- Se enjuaga tres veces con agua Milli-RO para retirar los restos de ácido.
- 4- Posteriormente se procede a sumergir el material en baño cerrado de  $\text{HNO}_3$  ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ) durante al menos una semana. Este ácido se prepara utilizando agua desionizada (Milli-Q) como disolvente y se renueva, al menos, una vez al mes en función de su uso.
- 5- Tras sacarse del baño de ácido, el material se enjuaga cuatro veces con agua desionizada (Milli-Q) y seca en campana de flujo laminar.
- 6- Por último, se almacena protegido dentro de bolsas de plástico transparente hasta su utilización.

El procedimiento de limpieza descrito fue usado para matraces, pipetas, puntas de micropipetas, reactores de teflón, portafiltros, embudos, probetas, etc. El material utilizado para el pretratamiento y análisis de las muestras de sedimento, cuando fue necesario, se sumergió en mezcla crómica durante 24 horas y a continuación se sometió al protocolo de limpieza anteriormente descrito.

#### II.3.3.2. PROCEDIMIENTO LIMPIEZA DEL MATERIAL USADO EN LA TOMA DE MUESTRA

El material a limpiar son los tubos usados en la toma de muestras, los cartuchos de filtración, los filtros de nylon y las botellas destinadas a recoger y almacenar las muestras.

##### Tubos para conducciones

Para realizar la toma de muestras se utilizan dos tipos de tubo: tubo de teflón rígido de FEP (A-06450-07 de Cole-Pamer Instrument Co. Illinois

U.S.A.), con el cual se forman la práctica totalidad de las conducciones, y tubo flexible de Tygon (6424-71 de Cole-Pamer Instrument Co. Illinois U.S.A.) (tubo C-Flex) para el cabezal de la bomba peristáltica y las conexiones; estos tubos fueron elegidos en función de su baja capacidad de adsorción y resistencia al ataque ácido.

Para limpiar el tubo de teflón, éste se divide en porciones de 3 m, cada una de las cuales se llena mediante la bomba peristáltica con  $\text{HCl}$  3 mol  $\text{L}^{-1}$  por un periodo no inferior a seis semanas, manteniéndose así hasta el momento de la toma de muestras. Para retener el ácido en el interior del tubo se unen los dos extremos con un pequeño trozo de tubo C-Flex. El tubo lleno de ácido se guarda en una doble bolsa opaca, para preservarlo de posibles fuentes de contaminación, hasta el momento de la toma de muestras.

Para realizar la limpieza del tubo C-Flex, éste se divide en porciones de 30 cm de longitud que se mantienen dentro de un baño de  $\text{HCl}$  3 mol  $\text{L}^{-1}$  durante una semana. Después de este tiempo se enjuagan con agua desionizada (Milli-Q) dentro de una campana de flujo laminar. Una vez enjuagados se guardan en bolsas con cierre hermético, que a su vez se almacenan en una bolsa opaca. Estos tubos se conservan de este modo hasta la realización de la toma de muestras.

#### Cartuchos de filtración

La limpieza de los cartuchos de filtración “filtros MSI” (Calyx Capsule, polypropylene, 0,45  $\mu\text{m}$ , 3/8” barb, 1/PK, U.S.A) requiere un periodo de tiempo de unos diez días, y se lleva a cabo mediante la realización de diversas etapas. En primer lugar los cartuchos se llenan con  $\text{CH}_3\text{OH}$  mediante la bomba peristáltica y se mantienen con este alcohol durante 24 horas. Después de este tiempo se vacían y se hace pasar agua desionizada (Milli-Q) para limpiar los restos de metanol que hayan podido quedar en el interior de los cartuchos. Se llenan con agua desionizada (Milli-Q) y se mantienen así durante otras 24 horas. Después se llenan de  $\text{HCl}$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$  durante una semana, enjuagándose posteriormente con agua desionizada (Milli-Q) para eliminar los restos de ácido. Es importante eliminar completamente el ácido clorhídrico del interior de los cartuchos, pues en el siguiente paso se utilizará ácido nítrico y de existir mezcla de ambos ácidos, puede ocurrir la degradación del filtro. Tras dejar los cartuchos con agua desionizada (Milli-Q) durante 24 horas se llenan con  $\text{HNO}_3$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ , manteniéndose llenos de este ácido dentro de bolsas con cierre hermético, que a su vez se guardan en

el interior de una doble bolsa opaca, hasta la toma de muestra. Los ácidos utilizados en esta limpieza pueden ser reutilizados unas cinco veces sin que se perjudique la calidad de limpieza del material.

#### Filtros de nylon

Para limpiar los filtros de nylon que se emplean para calcular el tanto por ciento de materia orgánica presente en la materia suspendida, se enjuagan con agua desionizada (Milli-Q), se sumergen en un baño de  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  durante una semana, se enjuagan de nuevo con agua desionizada (Milli-Q), se secan en la estufa a  $120^\circ\text{C}$  hasta peso constante y se guardan en botes de poliestireno de 30 mL.

#### Portafiltros y filtros de acetato celulosa

Los filtros de acetato celulosa empleados para analizar As en la materia particulada y los portafiltros se limpian con el mismo protocolo descrito para los filtros de nylon.

#### Recipientes de toma de muestras

Para la toma de muestras se emplearon botellas de polietileno de baja densidad de 0,5 L de capacidad (código 203010, EUROTUBO, DELTALAB, Barcelona) provistas de tapón a presión. En estos recipientes se transportaron y almacenaron las muestras hasta su análisis.

El lavado debió realizarse por al menos dos personas, de forma que la persona que abría y manipulaba el material solo tocaba éste cubriendo sus manos con doble guante de plástico, mientras que la segunda persona actuaba como auxiliar y su labor era manejar todo el resto del material necesario para la limpieza: tarros de agua desionizada (Milli-Q), contenedores de ácido, abrir y cerrar los baños de ácido, manipular la campana de flujo laminar etc., con la premisa de que el auxiliar no debía tocar nunca el material que se estaba limpiando. En primer lugar, los botes son enjuagados con agua desionizada (Milli-Q) cinco veces, y se llenan posteriormente con ácido clorhídrico 3 mol  $\text{L}^{-1}$  tapándose y evitando que queden burbujas de aire en el interior. Las botellas con ácido se guardan en el interior de un bidón en el que se han colocado varias bolsas opacas, una en el interior de otra, y que se encuentra lleno de ácido clorhídrico 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ . Una vez situadas las botellas en el interior del baño de ácido, se procede a cerrar cada una de las bolsas, cerrando y precintando finalmente el bidón para evitar la salida de

vapores ácidos. Las botellas deben permanecer en el interior de este baño un mínimo de seis semanas. Pasado este tiempo de nuevo se requiere la intervención de dos personas para realizar el enjuague de las botellas con agua desionizada (Milli-Q) cinco veces en el interior de una campana de flujo laminar. Una vez enjuagadas las botellas, se introducen individualmente en el interior de una doble bolsa de plástico con cierre hermético. Estas bolsas con las botellas se guardan en el interior de dos bolsas opacas hasta el momento del muestreo. Los ácidos utilizados durante este proceso pueden ser reutilizados unas cinco veces sin que afecte a la limpieza de los botes.

### **II.3.4. REACTIVOS, DISOLUCIONES E INSTRUMENTAL UTILIZADO**

#### **II.3.4.1. REACTIVOS**

Para evitar la contaminación debida a los reactivos utilizados se emplearon en todos los tratamientos realizados en el estudio de especiación de aguas y análisis de la muestra biológica reactivos calidad análisis o suprapur. Éstos últimos son productos de pureza superior, especialmente indicados para el análisis de trazas a nivel de  $\mu\text{g L}^{-1}$  (partes por billón) en muestras de agua. Se trata fundamentalmente de ácidos, bases y sales, que han sido preparados con una pureza extraordinaria. Los valores numéricos que aparecen en el boletín de garantía vienen dados a menudo por el límite de detección de los métodos analíticos usados rutinariamente. A continuación se enumeran los reactivos utilizados durante la realización de este trabajo de investigación.

- ✓ Acetato de amonio  $[\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4]$ : calidad para análisis, Merck, Alemania.
- ✓ Acetato de sodio anhidro  $[\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}]$ : calidad suprapur®, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido acético glacial 100% anhidro  $[\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}]$ : calidad para análisis, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido acético glacial 100% anhidro  $[\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}]$ : calidad suprapur®, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido clorhídrico 30%  $[\text{HCl}]$ : calidad suprapur®, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido clorhídrico fumante 37%  $[\text{HCl}]$ : calidad para análisis, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido fluorhídrico 40%  $[\text{HF}]$ : calidad para análisis, Merck, Alemania.

- ✓ Ácido nítrico 65% [HNO<sub>3</sub>]: calidad para análisis, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido nítrico 65% [HNO<sub>3</sub>]: calidad suprapur®, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido perclórico 70% [HClO<sub>4</sub>]: calidad suprapur®, Merck, Alemania.
- ✓ Ácido sulfúrico 96% [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]: calidad para análisis, Panreac, España.
- ✓ Borohidruro de sodio [NaBH<sub>4</sub>]: calidad para análisis, Merck, Alemania.
- ✓ Cloruro de hidroxilamonio [NH<sub>2</sub>OH·HCl]: calidad para análisis, Merck, Alemania.
- ✓ Dicromato potásico [K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>]: calidad purísimo, Panreac, España.
- ✓ Hidrógeno peróxido 30% [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]: calidad suprapur®, Merck, Alemania.
- ✓ Hidrógeno peróxido 30% [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]: calidad para síntesis, Merck, Alemania.
- ✓ Hidróxido de sodio monohidratado [NaOH]: calidad suprapur®, Merck, Alemania.
- ✓ Disoluciones patrón de iones metálicos de 1000, 2000 y 4000 mg L<sup>-1</sup>: ICP Standard, Merck, Alemania.
- ✓ Material de referencia CRM505 (agua de estuario, acidificada a pH 1,6): Community Bureau of reference (BCR).
- ✓ Material de referencia 1649<sup>a</sup> (sedimento de estuario): National Institute of Standard & Technology.
- ✓ Material de referencia DOLT-3 (dogfish, hígado): National Research Council, Canadá.
- ✓ Material de referencia DORM-2 (dogfish, músculo): National Research Council, Canadá.

#### II.3.4.2. DISOLUCIONES

**Disolución reguladora CH<sub>3</sub>COOH/CH<sub>3</sub>COONa 3 mol L<sup>-1</sup>.** Se preparó ácido acético 6 mol L<sup>-1</sup>; para ello se tomaron 34 mL de ácido acético al 100% y se enrasaron hasta 100 mL con agua desionizada (Milli-Q). Se pesaron 123,05 g de acetato de sodio, se disolvieron en unos 300 mL de agua desionizada (Milli-Q) y se ajustó su pH hasta 4,7 adicionando ácido acético 6 mol L<sup>-1</sup>; por último se enrasó hasta 500 mL con agua desionizada (Milli-Q). Toda la manipulación se realizó en atmósfera limpia mediante el uso de campana de flujo laminar.

**Disoluciones patrón de metales.** Las disoluciones patrón de iones metálicos fueron preparadas en campana de flujo laminar por dilución de disoluciones patrón de 1000, 2000 y 4000 mg L<sup>-1</sup> ICP Standard (Merck, Alemania) con agua desionizada (Milli-Q). Estas disoluciones se prepararon en medio ácido, añadiendo HNO<sub>3</sub> (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) hasta una concentración final de 0,05 mol L<sup>-1</sup>. Además, con objeto de evitar

contaminación debida al vidrio se emplearon matraces aforados de plástico TPX.

**Disolución de acetato de amonio 1 mol L<sup>-1</sup> acidificada a pH=2.** Se disolvieron 13,4 g de acetato de amonio en unos 200 mL de agua desionizada (Milli-Q), se adicionaron entre 12 y 14 mL de HNO<sub>3</sub> al 65% (calidad para análisis, Merck (Alemania)) ajustándose el pH a 2 y se enrasó hasta 250 mL con agua desionizada (Milli-Q).

**Disolución de ácido acético 0,11 mol L<sup>-1</sup>.** Se tomaron 3,15 mL de ácido y se enrasaron hasta 500 mL con agua desionizada (Milli-Q).

**Disolución de ácido clorhídrico 3,86 mol L<sup>-1</sup>.** Se tomaron 79,9 mL de ácido clorhídrico fumante 37% (calidad para análisis, Merck (Alemania)) y se enrasó hasta 250 mL con agua desionizada (Milli-Q).

**Disolución de ácido clorhídrico 1%.** Se tomaron 16,65 mL de ácido clorhídrico (calidad Suprapur, Merck (Alemania)) y se enrasó hasta 500 mL con agua desionizada (Milli-Q).

**Disolución de borohidruro sódico 1% en hidróxido sódico.** Se pesó 1 g de borohidruro sódico, se disolvió y se enrasó hasta 100 mL con una disolución de hidróxido sódico al 0,1%.

**Disolución de cloruro de hidroxilamonio 0,4 mol L<sup>-1</sup>.** Se disolvieron 6,45 g de cloruro de hidroxilamonio en 200 mL de agua desionizada (Milli-Q), se ajustó hasta pH 2, adicionando aproximadamente 0,2 mL de HNO<sub>3</sub> al 65% (calidad para análisis, Merck (Alemania)) y se enrasó hasta 250 mL con agua desionizada (Milli-Q).

**Mezcla crómica.** Se disolvieron 6,5 gramos de dicromato de potasio en 10-20 mL de agua desionizada (Milli-Q) mediante calentamiento en placa calefactora. Se calienta 100 mL de ácido sulfúrico y se agrega el dicromato de potasio disuelto al ácido caliente.

#### II.3.4.3. INSTRUMENTACIÓN UTILIZADA

Las medidas por Voltametría de Redisolución Anódica de Impulso Diferencial (DPASV) fueron realizadas con dos equipos: 757 VA *Computrace Stand* (Metrohm, Suiza), controlado mediante el software VA *Computrace 2.0*

instalado en un ordenador personal, con la interfase *5326 VA Computrace Interfase (Metrohm, Suiza)*; y el equipo *746 VA Trace Analyzer processor* con un *Electrode 747 VA Stand (Metrohm, Suiza)*.

Las medidas por Espectroscopía Atómica fueron llevadas a cabo usando los siguientes equipos: un equipo de Absorción Atómica *Solar M series Spectrometer (AAS) (Thermo Elemental, Reino Unido)*, un equipo de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivo *Iris Intrepid Spectrometer (ICP-AES) (Thermo Elemental, Reino Unido)* y un equipo de Plasma Acoplado Inductivamente a su vez a un Espectrómetro de Masas *X7 Series (ICP-MS) (Thermo Elemental, Reino Unido)*. Las medidas de Absorción Atómica por Generación de Hidruros (HGAAS) se realizaron con el equipo de AAS anterior acoplado al accesorio *HG accessory Unicam VP90 (Thermo Elemental, Reino Unido)*.

La materia orgánica de las muestras de agua fue digerida mediante radiación UV con un *705 UV Digester (Metrohm, Suiza)* de lámpara a alta presión de mercurio (220V, 50Hz), empleando para ello cubetas de cuarzo.

El carbono orgánico disuelto (COD) en las muestras de agua fue evaluado usando un equipo *TOC Analyzer modelo 5050 (Shimadzu, Estados Unidos)*.

La digestión ácida de las muestras biológicas fue realizada mediante un microondas *Ethos 1600 Microwave Heating (Milestone, Italia)*.

Para la evaluación del contenido de materia orgánica en la materia suspendida se empleó un horno mufla *N 20/Hr (Nabertherm®, Alemania)*.

La agitación de las muestras durante el proceso de lixiviación se efectuó con un agitador *Promax 2020 Shaker (reciprocal motion) (Heidolph, Alemania)* y los extractantes fueron centrifugados en una centrifuga *4K10 Centrifuge (Sigma, Alemania)*.

Las muestras de tejidos de peces se liofilizaron mediante un equipo *Heto CT60 (Allerd, Dinamarca)*.



Las medidas *in situ* de temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto del agua se realizaron con sonda multiparamétrica portátil *Sension 156* (*Hach Co., Estados Unidos*).

Las medidas de pH realizadas en el laboratorio se realizaron en pH-metro *micropH 2001* equipado con un electrodo combinado de vidrio Ag/AgCl modelo 52-02 y compensador de temperatura (*Crisol, España*). Para las demás operaciones realizadas en el laboratorio se ha empleado una balanza de precisión *TR-104* (*Cobos, España*), bomba de vacío modelo *xx562050* (*Millipore, Estados Unidos*), agitador magnético-calefactor *Agimatic-N* (*Selecta, España*), estufa calefactora (*Selecta, España*), ultrasonido *Ultrasons P-selecta* (*Selecta, España*), y baño termostático *WB 2001* (*Heidolph, Alemania*).

La preparación y manipulación de muestras y disoluciones se ha realizado empleando guantes de polietileno y trabajando en una cabina de flujo laminar *Crusair modelo 19005-FL* (*Cruma, España*). El agua utilizada para la preparación de las disoluciones se obtuvo con el equipo de purificación *Elix 3* (*Millipore, Estados Unidos*), equipo que combina tecnologías de purificación complementarias, la unidad de ósmosis inversa elimina el 95-99 % de los iones inorgánicos y el 99% de las sustancias disueltas ( $P_m > 100$  Dalton) así como los microorganismos y las partículas, el módulo *Elix* por medio de las resinas de intercambio iónico elimina los iones que han atravesado la membrana RO. Esta agua sirve de alimentación a un equipo *Milli-Q<sup>50</sup> system* (*Millipore, Estados Unidos*), que emplea un proceso de purificación de tres etapas. Un módulo de purificación *Q-Gard* adaptado al tipo de agua de alimentación lleva a cabo la purificación inicial a fin de optimizar el rendimiento de los medios posteriores. La segunda etapa es un módulo de ultrapurificación *Quantum* específico para la aplicación y diseñado para eliminar los contaminantes iónicos y orgánicos hasta niveles de trazas. La purificación final la realiza el filtro *Millipak* de 0,22  $\mu\text{m}$ , que elimina las bacterias y las partículas de tamaño superior a 0,22  $\mu\text{m}$ .



CAPÍTULO III: DISTRIBUCIÓN  
Y BIODISPONIBILIDAD DE As,  
Pb, Cd, Cu y Zn EN EL  
LITORAL ATLÁNTICO  
SUROESTE DE ESPAÑA



En este capítulo se recogen los resultados obtenidos del estudio realizado en los ecosistemas acuáticos de la Ría de Huelva y de la Bahía de Cádiz. Se incluyen las características físico-químicas de los ecosistemas, el contenido metálico en aguas, sedimentos y tejidos de peces así como la distribución metálica en aguas y sedimentos a partir de los esquemas de especiación aplicados. Así mismo, se evalúan tanto las posibles influencias estacionales y espaciales que puedan existir en los resultados como las posibles correlaciones y semejanzas que se puedan establecer entre el contenido metálico y su distribución en cada uno de los compartimentos medioambientales estudiados.

### III.1. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

#### III.1.1. PARÁMETROS MEDIDOS IN SITU

En la **Tabla III.1** se muestran los resultados obtenidos para los parámetros físico-químicos medidos in situ en los puntos de muestreo: temperatura, valor de pH, salinidad y oxígeno disuelto.

**TABLA III.1.** Valores de los parámetros físico-químicos medidos in situ en todos los puntos de muestreo.

| MUESTREO | PARÁMETRO                              | PUNTO DE MUESTREO |       |       |       |       |
|----------|--|-------------------|-------|-------|-------|-------|
|          |  | H1                | H2    | H3    | C4    | C5    |
| 1        | Temperatura (°C)                       | 24                | 23,9  | 23,9  | 24    | 8,3   |
|          | pH                                     | 7,85              | 7,82  | 8,01  | 7,85  | 8,58  |
|          | Oxígeno disuelto (mg L <sup>-1</sup> ) | 6,3               | 6,4   | 6,74  | 6,3   | 10,3  |
|          | Salinidad (‰)                          | 35,80             | 36,10 | 35,20 | 35,80 | 34,60 |
| 2        | Temperatura (°C)                       | 18                | 18,7  | 17,3  | 23    | 26,4  |
|          | pH                                     | 8,14              | 8,21  | 8,37  | 7,95  | 8,35  |
|          | Oxígeno disuelto (mg L <sup>-1</sup> ) | 11,31             | 7,45  | 9,25  | 5,73  | 7,6   |
|          | Salinidad (‰)                          | 32,40             | 32,40 | 33,90 | 45,50 | 37,00 |

**TABLA III.1 (cont.).** Valores de los parámetros físico-químicos medidos in situ en todos los puntos de muestreo.

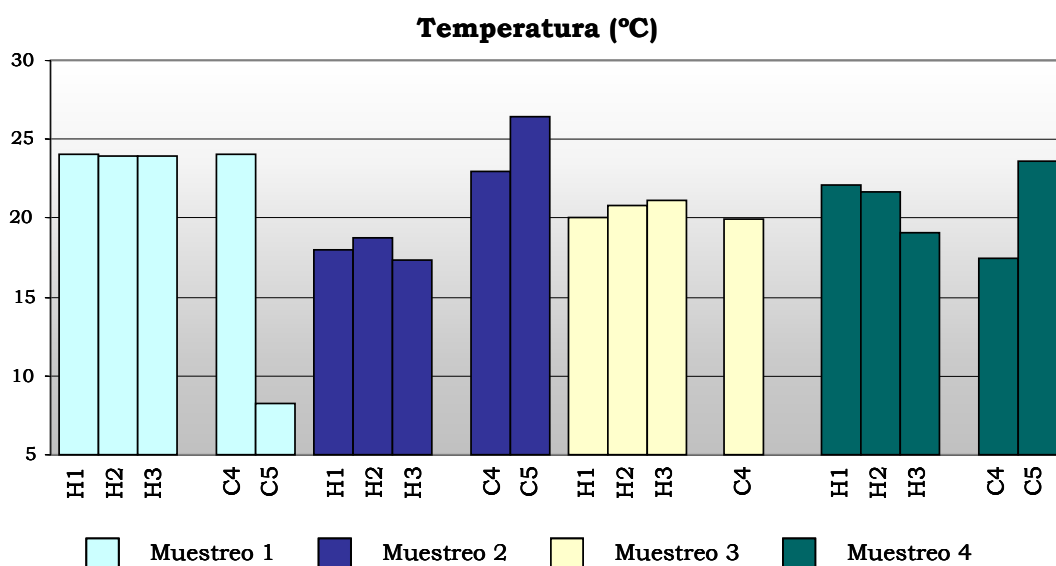
| MUESTREO | PARÁMETRO                              | PUNTO DE MUESTREO |       |       |       |       |
|----------|--|-------------------|-------|-------|-------|-------|
|          |  | H1                | H2    | H3    | C4    | C5    |
| 3        | Temperatura (°C)                       | 20                | 20,8  | 21,1  | 19,9  |       |
|          | pH                                     | 7,87              | 7,86  | 8,15  | 8,16  |       |
|          | Oxígeno disuelto (mg L <sup>-1</sup> ) | 8,4               | 7,45  | 13,6  | 8,6   |       |
|          | Salinidad (‰)                          | 34,70             | 34,60 | 35,20 | 41,90 |       |
| 4        | Temperatura (°C)                       | 22,1              | 21,7  | 19,1  | 17,4  | 23,6  |
|          | pH                                     | 7,74              | 7,84  | 7,92  | 8,35  | 8,16  |
|          | Oxígeno disuelto (mg L <sup>-1</sup> ) | 13,32             | 13,3  | 9,4   | 7,05  | 6,4   |
|          | Salinidad (‰)                          | 30,20             | 29,50 | 33,90 | 38,80 | 36,50 |

## TEMPERATURA

La temperatura de un ecosistema acuático depende fundamentalmente de la absorción de radiación en las capas superiores del líquido, estando ligada a la energía cinética media de sus moléculas. Las variaciones de temperatura afectan a la solubilidad de sales y gases en agua, y en general, a todas sus propiedades, tanto físicas como químicas, y a su comportamiento microbiológico. Los valores de temperatura en las aguas superficiales son función de la época del año, la hora del día, la profundidad del medio y el caudal en cuencas fluviales.

En la **Figura III.1** se presentan los valores de temperatura de las aguas. En las temperaturas registradas para los puntos de muestreo de la Ría de Huelva se observan algunas variaciones de una campaña a otra, aunque no se observa estacionalidad en las mismas, oscilando los valores de temperatura entre 17,3° y 23,9°C. Este comportamiento es típico de sistemas de estuarios en los que ocurren fluctuaciones en las temperaturas (°C) debido a la poca profundidad y amplia superficie de área, siendo estas fluctuaciones en las temperaturas más marcadas durante las mareas bajas. Dentro de cada campaña las variaciones de temperatura entre los puntos de muestreo son pequeñas del orden de uno o dos grados. En la Bahía de Cádiz las variaciones de temperatura observadas en C5 son mayores en comparación con la Ría de Huelva, tanto entre campañas como entre puntos de muestreo. La temperatura media en el caño de la Bahía de Cádiz oscila entre 8,3° y 26,4° con una evolución típicamente estacional. Sin embargo en C4 al igual que

ocurre en Huelva se observa diferencias entre las campañas pero no estacionalidad.

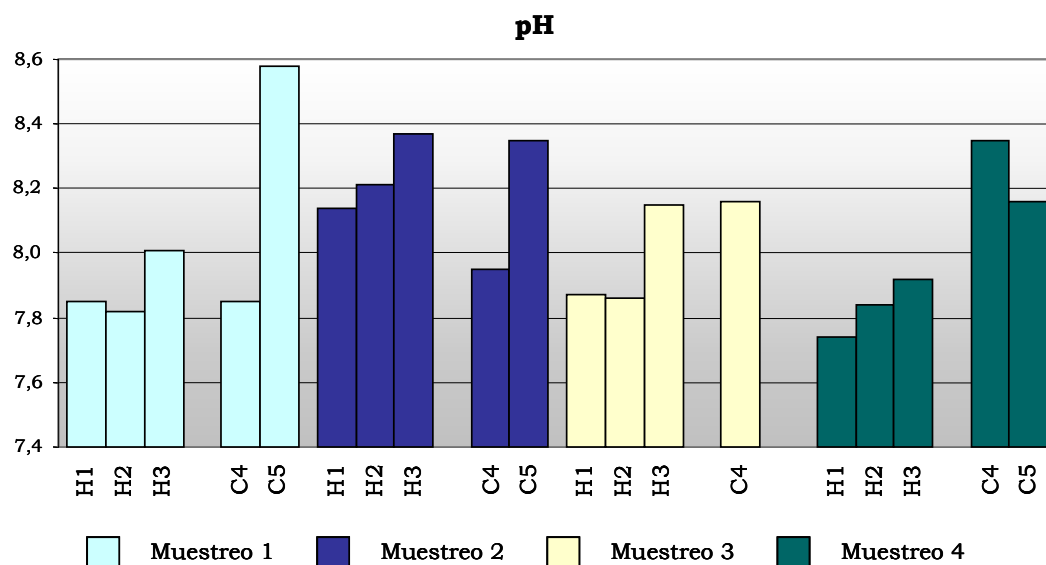


**FIGURA III.1.** Valores de temperatura de las aguas en los puntos de muestreo.

## pH

El valor de pH en las aguas se debe sobre todo al equilibrio carbónico y a la actividad de los microorganismos acuáticos. Respecto a lo primero la secuencia de equilibrios de disolución de  $\text{CO}_2$  en un agua, y la subsiguiente disolución de carbonatos e insolubilización de bicarbonatos, alteran drásticamente el pH de cualquier agua. Asimismo, la actividad fotosintética reduce el contenido en  $\text{CO}_2$  mientras que la respiración de los organismos heterótrofos produce dióxido de carbono causando un efecto contrario con respecto al pH del medio acuático. En el caso de las aguas oceánicas, donde el sistema de amortiguación del carbonato-bicarbonato opera de forma muy efectiva, el pH varía dentro de unos límites estrechos (7,5 a 8,4) [KENNISH, 1986]. En aguas cercanas a la costa, el pH del agua se puede alejar del valor promedio por efecto de la actividad fotosintética, la respiración celular y el efecto de las descargas de origen antropogénico.

En la **Figura III.2** se presentan los valores de pH del agua medidos en las estaciones de la Ría de Huelva y la Bahía de Cádiz.



**FIGURA III.2.** Valores de pH de las aguas en los puntos de muestreo.

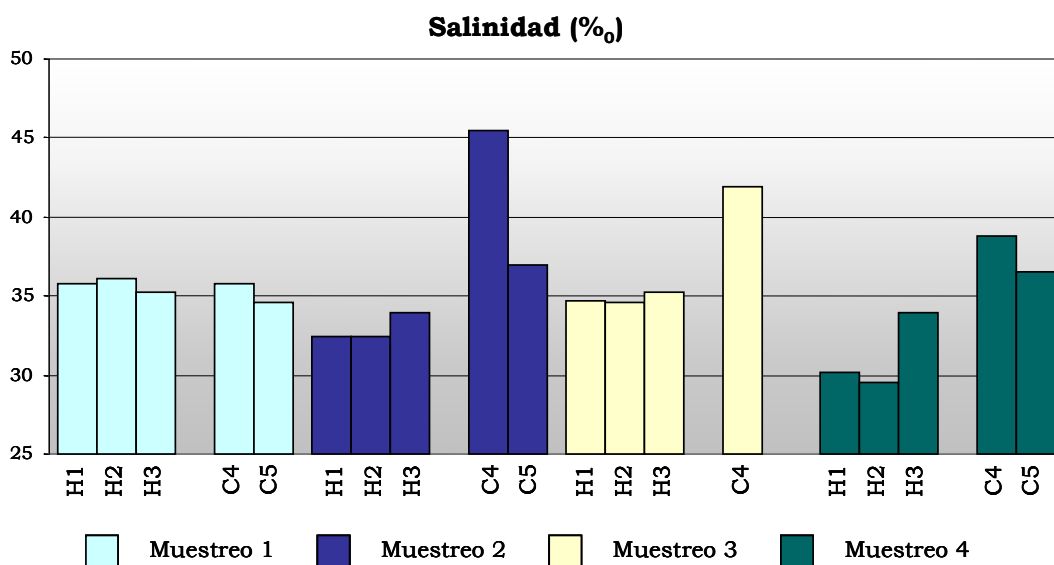
En la Ría de Huelva se muestran las oscilaciones características de los sistemas de estuario, un pequeño aumento de los valores de pH desde los puntos de muestreo H1 y H2, de condiciones más estuarinas, hasta el punto de muestreo H3 próxima a la desembocadura, donde la influencia marina es mayor. No se han observado importantes variaciones entre las distintas campañas de toma de muestra, manteniéndose los valores dentro del intervalo de 7,74 a 8,37 unidades de pH, siendo más altos que los pH ácidos registrados en los cauces de los ríos [BRAUNGARDT, 2003], debido a que los puntos de muestreo se encuentran dentro de la zona mareal en la que se produce una mezcla efectiva entre las aguas del mar y las aguas dulces de los ríos. Los valores de pH registrados en las estaciones de la Bahía de Cádiz se mantienen dentro del rango habitual en las aguas naturales, oscilando entre 7,85 y 8,6 unidades de pH, debido a las características de los puntos de muestreo situadas en un caño, vía fluvial por donde entran y salen de las marismas las aguas mareales, y en una marisma reconvertida para la acuicultura, ambas sometidas a la acción de las mareas. Son precisamente éstas las que controlan las variaciones de pH. Así, se observa como en el punto de muestreo C5 los valores de pH son menores a medida que la toma de muestra se realiza más próxima a la hora de bajamar.



### SALINIDAD

En el estuario de los ríos Tinto y Odiel se produce la mezcla de las aguas saladas del océano (35 ‰) y las dulces de los ríos (0,5 ‰), produciéndose un gradiente de salinidad entre las áreas externas e internas del estuario. Durante la subida de la marea, el agua de mar penetra en el estuario formando lo que se denomina la onda salina. En este trabajo apenas se aprecia este gradiente de salinidad, debido a que las tomas de muestras se realizaron en la mayoría de los casos con marea vaciante y próximo a la hora de bajar, excepto en el cuarto muestreo en el que la toma de muestra coincidió con la bajamar y posterior llenado de la marea y por tanto se observa una mayor diferencia en los valores de salinidad entre el punto del canal del Padre Santo y los puntos de muestreos situados en los ríos. En las aguas superficiales el valor de salinidad depende directamente de la relación entre la evaporación y la precipitación, y por tanto, de las condiciones climáticas, es por eso, el carácter estacional que se observa en los valores de salinidad de las estaciones de Huelva.

En Cádiz, se observan mayores valores de salinidad en el estero de los Desamparados, como consecuencia de mayores fenómenos de evaporación en las aguas de esta zona.

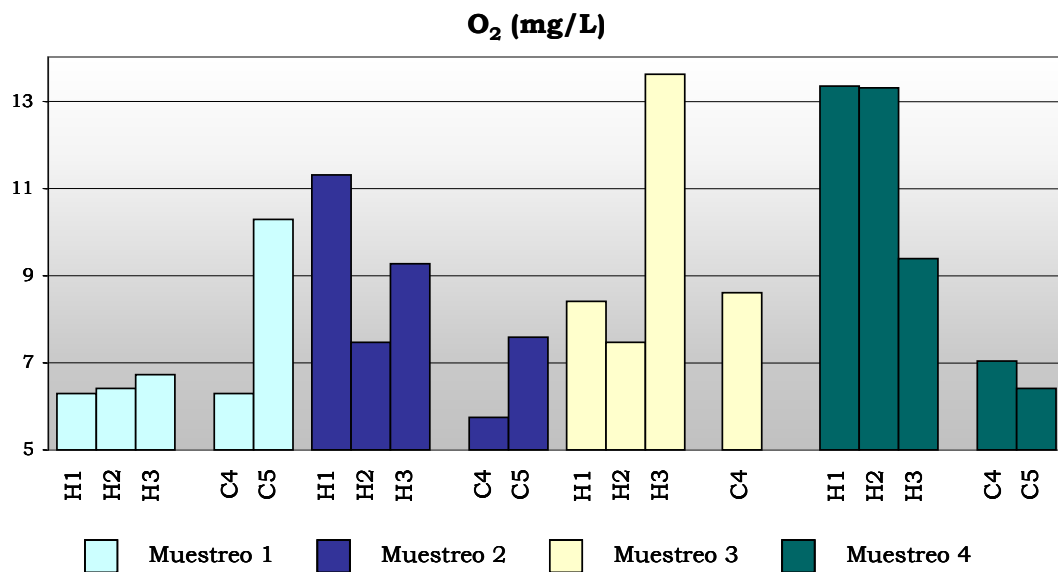


**FIGURA III.3.** Valores de salinidad de las aguas en los puntos de muestreo.

## OXÍGENO DISUELTO

El oxígeno es un gas muy relevante en la dinámica de aguas, su solubilidad es función de varios factores: temperatura, presión, coeficiente de solubilidad, tensión de vapor, salinidad y composición fisicoquímica del agua, siguiendo las leyes de Henry y Dalton. Además, el porcentaje de saturación de un agua depende de la turbulencia, de la superficie de contacto entre gas y agua y, finalmente, de su contenido salino. Un cauce natural al que accede un vertido residual rico en materia orgánica sufre una evolución en su oxigenación: inicialmente la descomposición bacteriana de la materia orgánica hace decrecer el nivel de oxígeno disuelto del agua, se producen gases y las aguas presentan aspecto pardo negruzco; después, cuando la producción fotosintética de  $O_2$  supera al gastado en la descomposición bacteriana de la materia orgánica, comienza a oxigenarse el agua de nuevo. Las aguas corrientes superficiales no contaminadas suelen estar bien oxigenadas ( $>7-8 \text{ mg L}^{-1}$ ); si el nivel de oxígeno disuelto es bajo normalmente indica contaminación con materia orgánica, aguas sépticas, mala calidad del agua e incapacidad para mantener determinadas formas de vida.

En la **Figura III.4** se representan los valores de oxígeno disuelto. Los niveles observados en la Ría de Huelva, a excepción de los correspondientes a la primera campaña de toma de muestra, corresponden a aguas bien oxigenadas. Estos valores coinciden con los descritos en la bibliografía ( $7-13,8 \text{ mg/L}$ ), que se explican debido a una elevada actividad fotosintética y al continuo movimiento debido a las corrientes de marea [CERÓN y col., 2000]. Se observa que existen diferencias significativas para este parámetro entre las muestras analizadas, destacando en Huelva los niveles menores del primer muestreo, y los del Tinto en el segundo y tercer muestreo. Con respecto a los puntos de muestreo de la Bahía de Cádiz, por lo general suelen presentar valores de oxígeno disuelto más bajos que en Huelva, a excepción del primer muestreo, en el que se observó un mayor contenido de oxígeno disuelto para el punto C5 (situada en el caño Sancti Petri a su paso por la localidad de San Fernando). Cabe destacar que por lo general los valores de oxígeno disuelto más bajos se observan en el punto C4, situado en el estero de los Desamparados, posiblemente debido al alto contenido en materia orgánica de estas aguas como consecuencia de la actividad acuícola desarrollada, al efecto de la salinidad y al hecho de tratarse de un estero donde las aguas están limitadas y quietas.



**FIGURA III.4.** Valores de oxígeno disuelto de las aguas en los puntos de muestreo.

### III.1.2. PARÁMETROS GENERALES

Para la caracterización físico-química de los puntos de muestreo, además de las propiedades medidas in situ y descritas en el apartado anterior, se realizaron las medidas en el laboratorio de los siguientes parámetros: la concentración de materia en suspensión de las aguas así como su contenido en materia orgánica, el carbono orgánico disuelto en las aguas y el contenido de materia orgánica de los sedimentos analizados. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla III.2.**

**TABLA III.2.** Materia suspendida y contenido en materia orgánica en aguas y sedimentos.

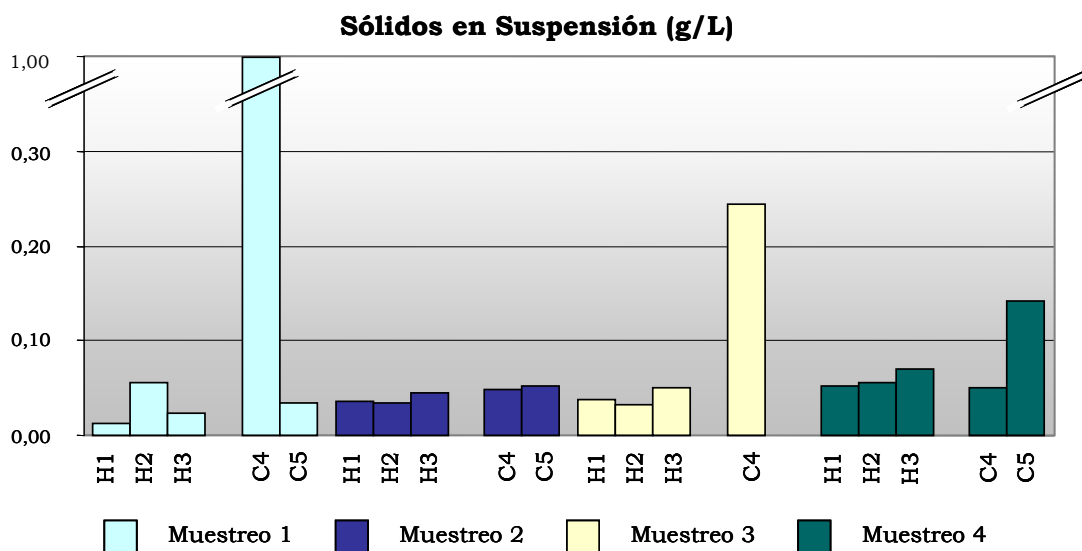
| MUESTREO | PARÁMETRO                                   | PUNTO DE MUESTREO |       |       |       |       |
|----------|---|-------------------|-------|-------|-------|-------|
|          |   | H1                | H2    | H3    | C4    | C5    |
| 1        | Sólidos en suspensión (g L <sup>-1</sup> )  | 0,012             | 0,056 | 0,023 | 0,983 | 0,035 |
|          | Materia orgánica en la mat. susp. (% peso)  | 57,78             | 63,20 | 47,40 | 19,47 | 19,60 |
|          | COD en agua (mg L <sup>-1</sup> )           | 3,67              | 3,84  | 4,11  | 7,52  | 1,4   |
|          | Materia orgánica en los sedimentos (% peso) | 1,38              | 1,32  | 1,18  | 0,73  | 1,03  |
| 2        | Sólidos en suspensión (g L <sup>-1</sup> )  | 0,035             | 0,035 | 0,045 | 0,049 | 0,052 |
|          | Materia orgánica en la mat. susp. (% peso)  | 35,86             | 45,26 | 34,89 | 18,65 | 46,72 |
|          | COD en agua (mg L <sup>-1</sup> )           | 1,94              | 2,22  | 0,87  | 3,44  | 3,4   |
|          | Materia orgánica en los sedimentos (% peso) | 0,99              | 1,10  | 0,87  | 0,97  | 0,89  |
| 3        | Sólidos en suspensión (g L <sup>-1</sup> )  | 0,038             | 0,032 | 0,051 | 0,243 |       |
|          | Materia orgánica en la mat. susp. (% peso)  | 24,96             | 55,91 | 26,01 | 10,83 |       |
|          | COD en agua (mg L <sup>-1</sup> )           | 2,82              | 2,33  | 1,48  | 6,3   |       |
|          | Materia orgánica en los sedimentos (% peso) | 1,19              | 1,76  | 0,32  | 0,52  |       |
| 4        | Sólidos en suspensión (g L <sup>-1</sup> )  | 0,052             | 0,055 | 0,070 | 0,051 | 0,142 |
|          | Materia orgánica en la mat. susp. (% peso)  | 6,98              | n.d.  | n.d.  | n.d.  | 3,17  |
|          | COD en agua (mg L <sup>-1</sup> )           | 7,72              | 7,4   | 6,4   | 9,33  | 9,6   |
|          | Materia orgánica en los sedimentos (% peso) | 0,95              | 1,06  | 0,92  | 1,26  | 0,95  |

**MATERIA SUSPENDIDA**

Los sólidos que ingresan a un curso de agua están sujetos en la columna líquida a los mismos procesos de transportes y dispersión que los compuestos disueltos, además son transportados verticalmente hacia el fondo, debido a la sedimentación de las partículas y/o material suspendido al que se hallan ligados. La carga de sólidos transportados por las aguas está constituida por sólidos en suspensión y sólidos en disolución.

Se definen los sólidos en suspensión como la porción de sólidos retenidos por un filtro de tamaño de poro de 0,45 µm que posteriormente se

seca a 103°-105° hasta peso constante. En la **Figura III.5** se representan los valores de sólidos en suspensión.



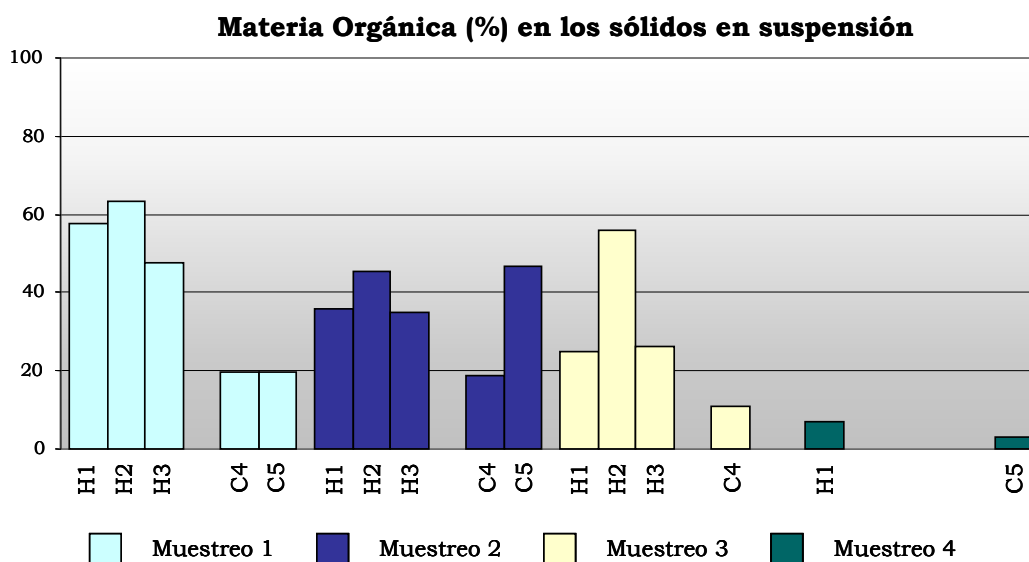
**FIGURA III.5.** Contenido de sólidos en suspensión de las aguas en los puntos de muestreo.

La carga de sólidos en suspensión observadas en las estaciones de la Ría de Huelva se mantiene dentro del intervalo de 0,012 a 0,070 g L<sup>-1</sup>, con un pequeño incremento de los sólidos en suspensión en la estación H3 (Canal del Padre Santo). Estos valores son del mismo orden a los descritos en otros sistemas estuáricos [BUTTLER, 2006; TROWBRIDGE y JONES, 2009]. En Cádiz, los mayores valores se observan en el punto C4, esto se debe a que la toma de muestra coincidió con las operaciones de despesque para las que se vacía los estanques. En la estación C5, se observó en el último muestreo un ligero aumento de este parámetro. Hay que indicar que en este punto de muestreo existe poca profundidad, lo que puede producir una mayor movilización de los fondos.

#### **MATERIA ORGÁNICA EN LA MATERIA SUSPENDIDA**

En la **Figura III.6** se representa el porcentaje de materia orgánica presente en la materia suspendida. En general, se observan mayores valores de materia orgánica en la Ría de Huelva que en la Bahía de Cádiz, superando en ocasiones el 50%. En la Ría de Huelva la estación H3, que está más próxima a la desembocadura, presenta un contenido de materia orgánica en

los sólidos en suspensión menor que H1 y H2, las cuales se encuentran situados más cerca de la ciudad de Huelva. En Cádiz, el punto C5 presentó un valor mayor para este parámetro durante el segundo muestreo. Hay que recordar que en esta zona se situaba anteriormente el emisario de los residuos urbanos de la ciudad de San Fernando.

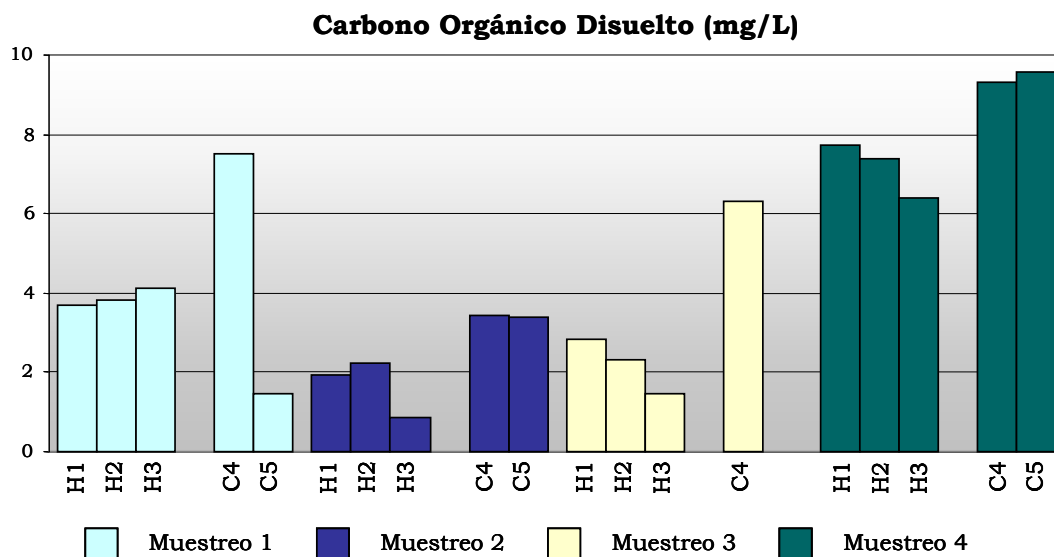


**FIGURA III.6.** Contenido de materia orgánica en los sólidos en suspensión de las aguas en los puntos de muestreo.

### CARBONO ORGÁNICO DISUELTO (COD)

En la **Figura III.7** se muestran los valores de carbono orgánico disuelto en las aguas. El contenido de carbono orgánico disuelto en la Ría de Huelva varía entre 0,99 y 7,72 mg L<sup>-1</sup>, encontrándose aproximadamente dentro del intervalo usual para este parámetro, descrito en la bibliografía (de 1 a 5 mg L<sup>-1</sup> en aguas de estuario [MORRIS, 1984]). Los valores mayores se dan en el muestreo 4 mientras que los menores contenidos se dan en el muestreo 2 y 3; no se observa ni variación estacional ni variación espacial en la Ría de Huelva en los resultados. En comparación, las estaciones de la Bahía de Cádiz presentan un contenido de carbono orgánico disuelto superior al de las estaciones de la Ría de Huelva, oscilando entre 1,4 y 9,6 mg L<sup>-1</sup>. Al igual que ocurre en las estaciones de Huelva, en las estaciones de Cádiz este parámetro

presenta los valores más elevados en el muestreo 4, no habiéndose observado variación estacional en los resultados.



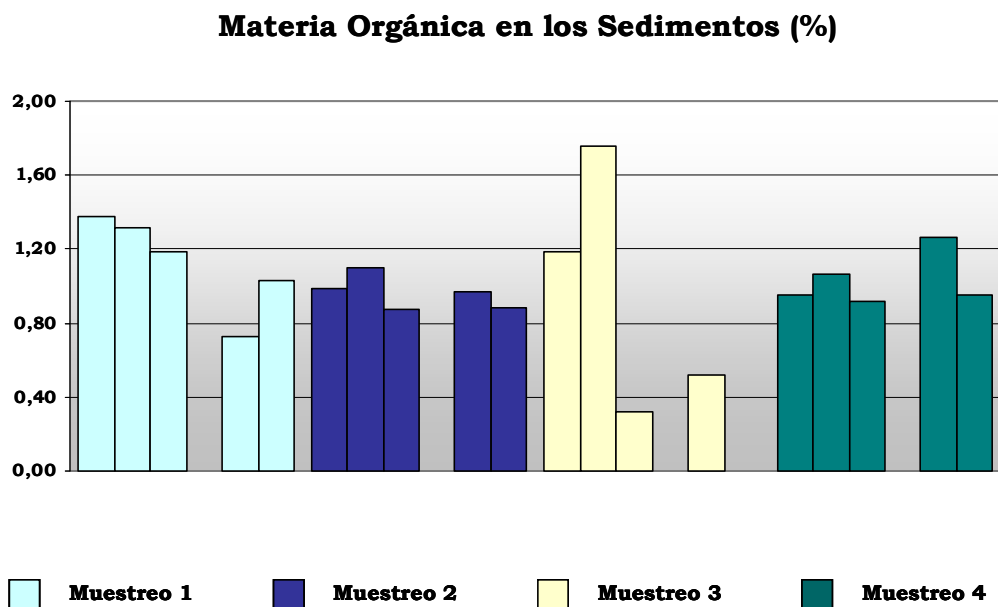
**FIGURA III.7.** Contenido de carbono orgánico disuelto de las aguas en los puntos de muestreo.

### MATERIA ORGÁNICA EN LOS SEDIMENTOS

Existen diferentes definiciones para la materia orgánica edáfica (MOS) de suelos y sedimentos. Aunque la definición más amplia sería la propuesta por Coleman [COLEMAN y col., 1989]: “la materia orgánica edáfica es una mezcla de componentes de diferentes formas y con diferentes tipos de orígenes biológicos”, o la de Stevenson [STEVENSON, 1994]: “La materia orgánica edáfica comprende el conjunto de materiales orgánicos presente en los suelos”. La materia orgánica tiene una gran influencia en las propiedades químicas y físicas de los sedimentos, tales como la capacidad de retención de agua, capacidad de intercambio iónico, etc. Una de sus características fundamentales es su habilidad de interactuar con la arcilla, iones metálicos, óxidos, hidróxidos, para formar asociaciones solubles o insolubles [ROSAS RODRÍGUEZ, 2001].

El contenido de materia orgánica de los sedimentos analizados se representa en la **Figura III.8**. Se puede observar como este contenido es muy similar en todas los puntos, estando comprendidos todos los valores en el

rango de 0,32-1,76%, los cuales son niveles normales en sedimentos de este tipo de ecosistemas [CARRASCO y col., 2003]. El valor más bajo y el más alto se observa en el tercer muestreo para los puntos de muestreo H3 y H2, respectivamente.



**FIGURA III.8.** Contenido de materia orgánica en los sedimentos en los puntos de muestreo.

## III.2. DISTRIBUCIÓN METÁLICA EN LA RÍA DE HUELVA

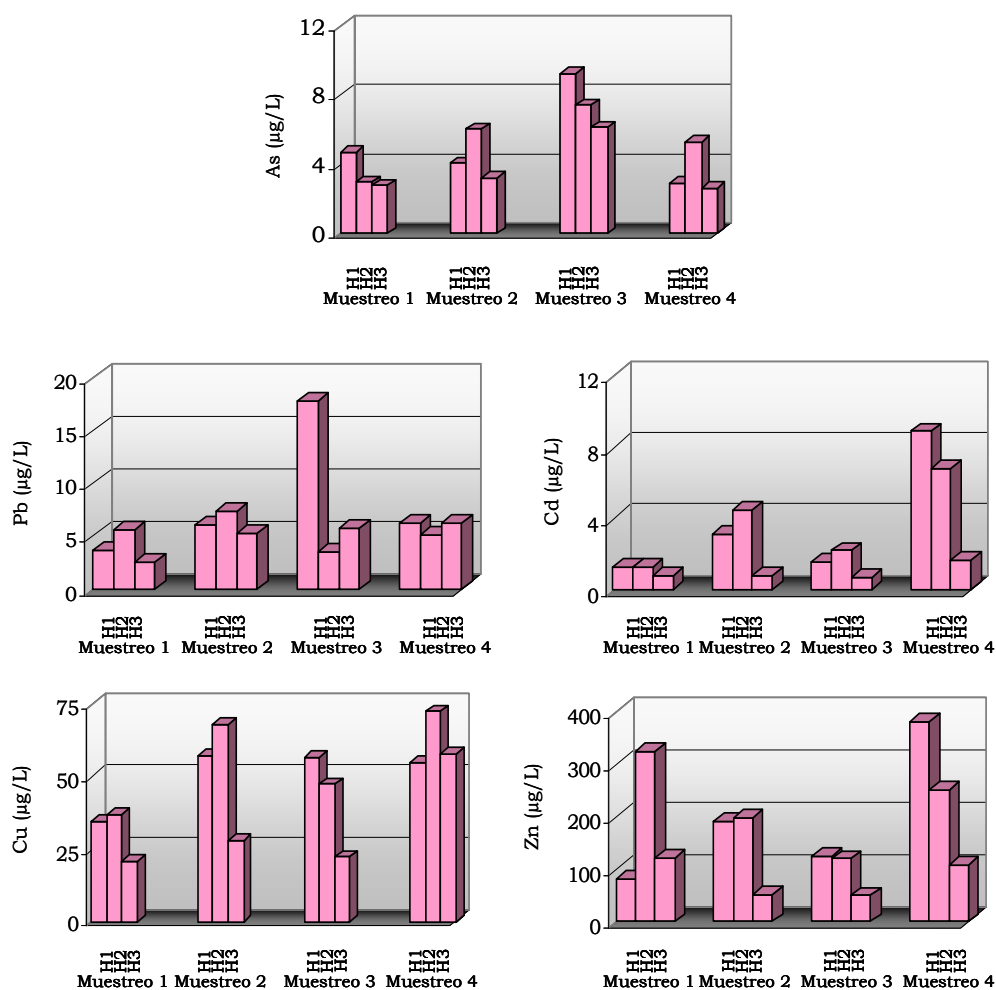
### III.2.1. CONTENIDO METÁLICO EN AGUA

#### III.2.1.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN AGUA

Las concentraciones totales de metales encontradas en las aguas están incluidas dentro de los siguientes intervalos: As: 2,6–9,3  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Pb: 2,6–17,8  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Cd: 0,7–8,9  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Cu: 20,4–72,4  $\mu\text{g L}^{-1}$  y Zn: 49,8–381,6  $\mu\text{g L}^{-1}$  (**Figura**



**III.9).** En general, se observa un menor contenido metálico en H3 que en los puntos H1 y H2 para los metales Zn, Cd, Cu y As, siendo éste un comportamiento típico de los ecosistemas estuáricos en los que la mezcla del agua de los ríos con el agua del mar provoca el paso de los metales disueltos en las aguas hacia los sedimentos. En los puntos H1 y H2 se observan valores similares con algunas subidas en determinadas estaciones. Así, destacan los valores de Zn en Tinto (primer muestreo) y Odiel (cuarto muestreo), así como Pb en Odiel en el tercer muestreo.



**FIGURA III.9.** Concentración total de As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua en las estaciones de la Ría de Huelva.

Con objeto de estudiar la influencia estacional y espacial que puedan presentar los metales en las aguas de la Ría de Huelva se ha realizado el análisis de la varianza de los resultados obtenidos. Previamente, se ha estudiado la normalidad y homogeneidad de las varianzas aplicando los estadísticos apropiados y cuyos resultados se muestran en el anexo A.4.1. Así, el contenido de As, Cu y Zn en las aguas corresponden a unas distribuciones normales y homogéneas, mientras que los datos de Pb y Cd no se ajustan a una distribución normal, pero tras aplicarles una transformación logarítmica se verifica la normalidad y homogeneidad de los mismos. Que una distribución no sea normal puede indicar la existencia de valores alejados de los valores medios de la distribución; en el caso del Pb, como se ha indicado anteriormente, se observa un incremento en la concentración en Odiel en el tercer muestreo; para el Cd los valores suben en Tinto y Odiel en el cuarto muestreo.

El contenido de Cu y Cd en las aguas de la Ría de Huelva presenta influencia estacional, como se deduce del análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional (otoño-primavera) (**Tabla III.1**); así en la **Figura III.9** se observa que los niveles de estos metales son mayores en el segundo y cuarto muestreo los cuales fueron realizados en primavera en comparación con aquellos realizados en otoño. Por otro lado, el análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial (los distintos puntos muestreo) (**Tabla III.4**), no muestra que existan diferencias estadísticamente significativas en los niveles de los metales entre los tres puntos de muestreo de la Ría de Huelva.

**TABLA III.3.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional en los niveles de metales en las aguas de la Ría de Huelva (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| METALES         | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL       | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F            | SIG.         |
|-----------------|---------------------------------|----------|---------------------|--------------|--------------|
| As              | 7,078                           | 1        | 7,078               | 1,684        | 0,224        |
| Pb <sup>1</sup> | 0,012                           | 1        | 0,012               | 0,267        | 0,617        |
| Cd <sup>1</sup> | <b>0,531</b>                    | <b>1</b> | <b>0,531</b>        | <b>5,588</b> | <b>0,040</b> |
| Cu              | <b>1183,88</b>                  | <b>1</b> | <b>1183,88</b>      | <b>5,406</b> | <b>0,042</b> |
| Zn              | 10992,50                        | 1        | 10992,50            | 0,978        | 0,346        |

GL – grados de libertad; SIG – significación estadística; <sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))

**TABLA III.4.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial en los niveles de metales en las aguas de la Ría de Huelva (*nivel de significación  $p < 0,05$* ).

| METALES         | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|-----------------|---------------------------------|----|---------------------|-------|-------|
| As              | 7,304                           | 2  | 3,652               | 0,786 | 0,485 |
| Pb <sup>1</sup> | 0,070                           | 2  | 0,035               | 0,797 | 0,480 |
| Cd <sup>1</sup> | 0,655                           | 2  | 0,327               | 3,562 | 0,073 |
| Cu              | 1271,180                        | 2  | 635,590             | 2,721 | 0,119 |
| Zn              | 43993,600                       | 2  | 21996,800           | 2,492 | 0,138 |

GL – grados de libertad; SIG – significación estadística; <sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))

Igualmente, se ha estudiado si existe relación entre el contenido total de los metales en las aguas y los parámetros físico-químicos y generales. Para ello se ha realizado la correlación lineal de Pearson (paramétrica) entre los parámetros estudiados, los cuales se ajustan a distribuciones normales (anexo A.4) y los niveles totales de los metales en agua o sus transformadas logarítmicas (para Pb y Cd) (**Tabla III.5**). Zn y Cd están correlacionados de forma positiva con el carbono orgánico disuelto (COD); estos metales como se ha indicado en la introducción están asociados en su geoquímica. Además, Cd y Cu presentan una correlación significativa negativa con la salinidad, de manera que estos metales presentan un comportamiento conservativo en el estuario. Para Pb y As no se han encontrado correlaciones con los parámetros físico-químicos. Del mismo modo se ha estudiado si existe relación entre los niveles totales de los metales en agua, para lo cual se ha realizado la correlación lineal de Pearson (**Tabla III.6**). Se observa que Cd correlaciona de forma positiva con Cu y Zn, metales con los que presenta un comportamiento similar como se ha indicado anteriormente.

Por último, se ha investigado si existen semejanzas entre los metales estudiados en el agua, para lo cual se ha usado el análisis de conglomerados o análisis cluster, como técnica exploratoria para agrupar las variables en función de su similitud. Los valores correspondientes a todas las variables se han estandarizado sustrayendo a cada dato el valor de la media y dividiendo este resultado entre la desviación estándar de cada variable. En la **Figura III.10** se ha representado el dendograma correspondiente a los metales analizados en las aguas de la Ría de Huelva. En esta figura se observan dos

agrupaciones, por un lado As y Pb, y por otro lado, el Zn está íntimamente ligado al contenido de Cd, y ambos aparecen agrupados al contenido de Cu. De este modo, el análisis cluster agrupa aquellos metales que han demostrado tener un comportamiento similar en el estuario de los ríos Tinto y Odiel, como es el caso del Zn, Cd y Cu, y por otro lado As y Pb que no han mostrado correlación con los parámetros físico-químicos, lo cual podría indicar que tienen un origen y/o comportamiento diferente a los anteriores.

**TABLA III.5.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los parámetros físico-químicos y generales con los niveles totales de metales en la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

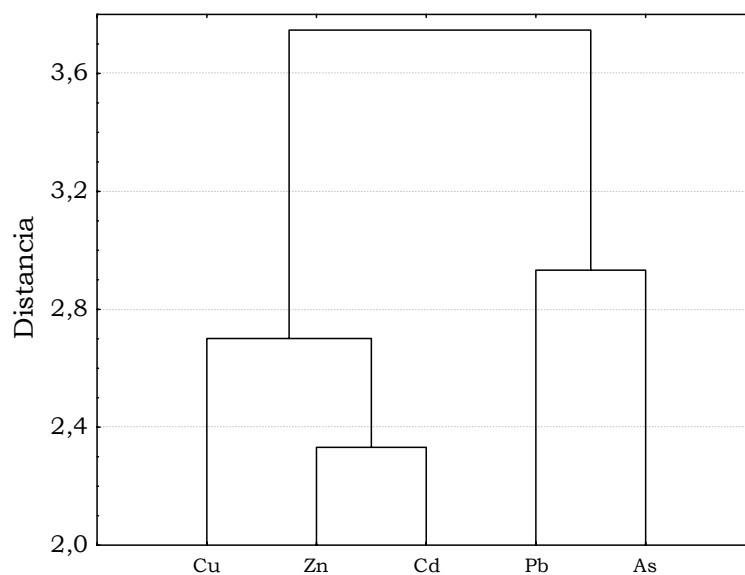
| PARÁMETRO          | As    | Pb <sup>1</sup> | Cd <sup>1</sup> | Cu           | Zn          |
|--------------------|-------|-----------------|-----------------|--------------|-------------|
| T <sup>a</sup>     | -0,16 | -0,44           | -0,09           | -0,35        | 0,29        |
| pH                 | -0,06 | 0               | -0,39           | -0,27        | -0,53       |
| O <sub>2</sub>     | -0,03 | 0,19            | 0,41            | 0,25         | 0,22        |
| Salinidad          | 0,09  | -0,15           | <b>-0,87</b>    | <b>-0,71</b> | -0,54       |
| Sol. Susp.         | -0,26 | 0,33            | 0,19            | 0,29         | 0,32        |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,09  | -0,35           | -0,44           | -0,48        | -0,16       |
| COD                | -0,36 | -0,07           | <b>0,59</b>     | 0,44         | <b>0,61</b> |
| % M.O. sedimento   | 0,2   | -0,23           | 0,16            | 0,18         | 0,16        |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))

**TABLA III.6.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los niveles totales de metales en la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

|                 |       |                 |                 |      |    |
|-----------------|-------|-----------------|-----------------|------|----|
| As              | 1     |                 |                 |      |    |
| Pb <sup>1</sup> | 0,5   | 1               |                 |      |    |
| Cd <sup>1</sup> | 0,04  | 0,2             | 1               |      |    |
| Cu              | 0,26  | 0,48            | <b>0,84</b>     | 1    |    |
| Zn              | -0,28 | 0,13            | <b>0,73</b>     | 0,46 | 1  |
|                 | As    | Pb <sup>1</sup> | Cd <sup>1</sup> | Cu   | Zn |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))

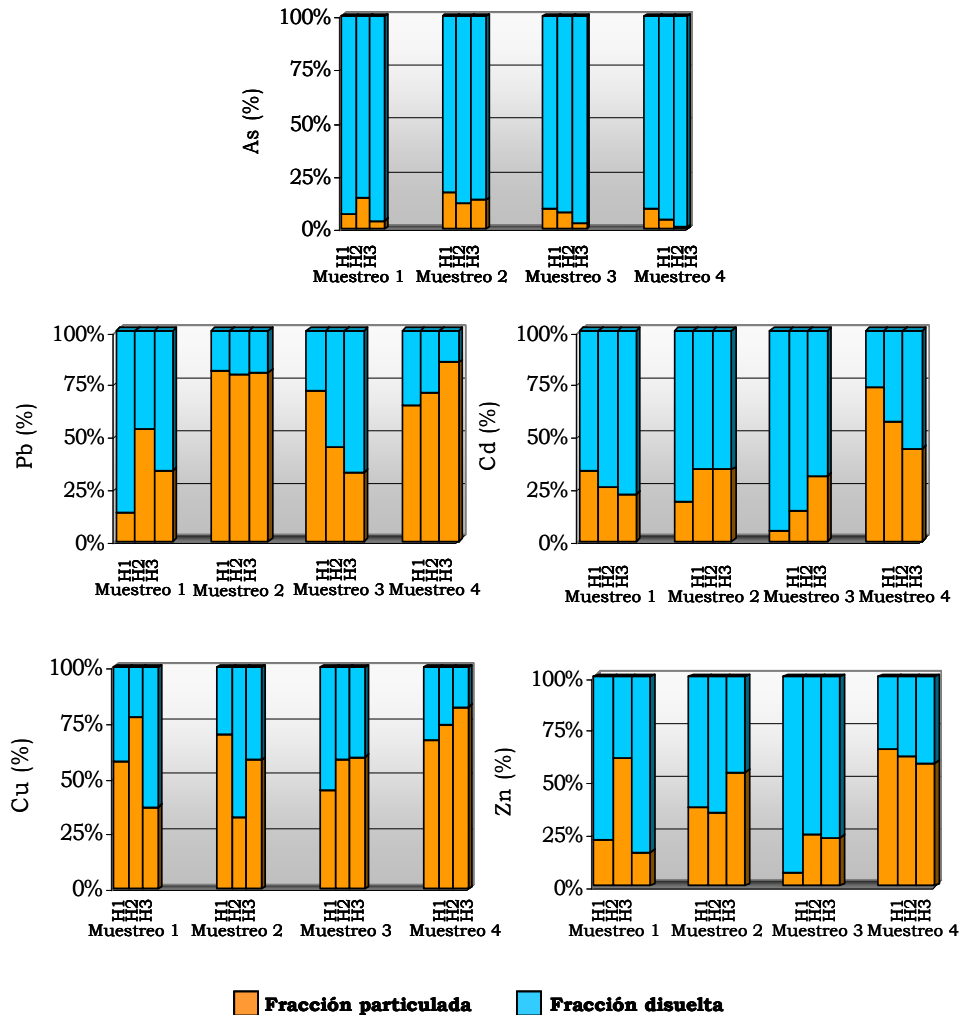


**FIGURA III.10.** Dendrograma de los niveles totales de As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua de la Ría de Huelva.

#### III.2.1.2. DISTRIBUCIÓN METÁLICA ENTRE LAS FASES DISUELTA Y PARTICULADA

El esquema de especiación empleado permite realizar una primera distinción de los niveles metálicos totales en las aguas analizadas distribuidos entre la fase disuelta y particulada, considerándose ésta última como la fracción menos biodisponible. La distribución de los metales analizados entre la fase disuelta y particulada en porcentaje se muestra en la Figura III.11. Los resultados obtenidos, cuyos valores se encuentran en el anexo A.3, muestran elevados porcentajes en la fase particulada para Pb y Cu (13,9–85,1% y 32,7–88,2%, respectivamente). En la figura se observa que Zn y Cd aparecen distribuidos mayoritariamente en la fase disuelta, aunque en primavera aumentan sus fracciones particuladas, constituyendo a veces el 54–66% del total en agua para Zn, y aumentando la fracción particulada de Cd hasta el 43,7–73,6% en el último muestreo realizado. Por último, el As encontrando en la Ría de Huelva se encuentra principalmente en la fase disuelta (82,6–99,5%) en todas las muestras. Por lo tanto, los metales pueden ser ordenados de mayor a menor porcentaje en la fracción disuelta, y por tanto de mayor a menor disponibilidad, como sigue: As > Cd > Zn > Pb > Cu siendo sus

porcentajes medios en la fase disuelta: 91,5%, 67,3%, 61,1%, 40,7% y 40,1%, respectivamente.



**FIGURA III.11.** Distribución del contenido de As, Pb, Cd, Cu y Zn entre las fracciones disuelta y particulada en agua en las estaciones de la Ría de Huelva.

Se ha obtenido el coeficiente de reparto entre las fases particulada y disuelta, calculada a partir de la expresión:  $K_d (L g^{-1}) = [M_{particulado}] / [M_{disuelta}]$ , la cual da la razón entre el contenido metálico en la materia en suspensión y la cantidad de metal disuelto en las aguas. El coeficiente de reparto ha estado comprendido de 0,1 a 6 para el As; 9,5 a 124,2 para Pb; 1,4 a 53,4 para Cd;

14,01 a 108,8 para Cu y de 1,7 a 37 en el caso del Zn (**Tabla III.7**). Por lo tanto los mayores coeficientes de reparto se han obtenido para Pb y Cu, lo cual indica la afinidad de estos metales para ser transportados con la fase sólida. Estos coeficientes de reparto son del orden de magnitud similar a los descritos en la Ría de Ferrol para Cd, Pb, Cu y Zn (135, 263, 22 y 26 (L g<sup>-1</sup>) respectivamente) y a los descritos en el estuario del Sena para Cd, Cu y Zn (8, 40 y 35 (L g<sup>-1</sup>) respectivamente) [CHIFFOLEAU y col., 1994; COBELO-GARCÍA y col., 2004a]

**TABLA III.7.** Coeficientes de reparto  $K_d$  (L g<sup>-1</sup>) entre la materia suspendida y la columna de agua para As, Pb, Cd, Cu y Zn en las aguas de la Ría de Huelva.

| MUESTREO | ESTACIÓN DE MUESTREO | COEFICIENTE DE REPARTO $K_d$ |       |      |       |      |
|----------|----------------------|------------------------------|-------|------|-------|------|
|          |                      | As                           | Pb    | Cd   | Cu    | Zn   |
| 1        | H1                   | 6,0                          | 13,0  | 40,3 | 108,8 | 22,6 |
|          | H2                   | 3,0                          | 20,5  | 6,2  | 61,7  | 28,3 |
|          | H3                   | 1,7                          | 21,6  | 12,1 | 25,2  | 8,2  |
| 2        | H1                   | 6,0                          | 124,2 | 6,4  | 64,8  | 16,9 |
|          | H2                   | 3,9                          | 112,3 | 15,3 | 14,0  | 15,7 |
|          | H3                   | 3,5                          | 89,9  | 11,3 | 30,8  | 25,9 |
| 3        | H1                   | 2,8                          | 66,8  | 1,4  | 20,7  | 1,7  |
|          | H2                   | 2,6                          | 25,4  | 5,4  | 43,5  | 10,4 |
|          | H3                   | 0,4                          | 9,5   | 8,7  | 28,9  | 5,8  |
| 4        | H1                   | 2,1                          | 34,5  | 53,4 | 39,8  | 37,0 |
|          | H2                   | 0,8                          | 43,1  | 23,7 | 52,6  | 30,2 |
|          | H3                   | 0,1                          | 81,9  | 11,1 | 66,0  | 20,3 |

Del mismo modo que es importante identificar las tendencias estacionales o espaciales que muestran las concentraciones totales de los metales en las aguas, lo es conocer si existen tendencias estacionales o espaciales en como se distribuyen los metales entre la fase particulada y

disuelta en las aguas. Por ese motivo se han realizado los correspondientes estudios del análisis de la varianza sobre el porcentaje de la fracción disuelta o particulada. Al ser complementarias, cualquiera de las dos fracciones es válida para este estudio, habiéndose realizado éste con la fracción disuelta. Los porcentajes de fracción disuelta de los metales en las aguas de la Ría de Huelva corresponden a distribuciones homogéneas y además presentan homogeneidad de las varianzas tanto estacional como espacial (anexo A.4).

Los resultados obtenidos para el análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional (otoño-primavera) de la fracción disuelta expresada en tanto por ciento, se muestran en la **Tabla III.8**. Se observa influencia estacional significativa (grado de significación  $p < 0,05$ ) para la fracción disuelta de Zn, Cd y Pb, con un descenso del metal disuelto en aquellos muestreos llevados a cabo en primavera (muestreo 2 y muestreo 4).

**TABLA III.8.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional del porcentaje de fracción disuelta de los metales en las aguas de la Ría de Huelva (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| % FRACCION DISUELTA | TIPO VI SUMA DE CUADRADOS | GL       | MEDIA CUADRATICA | F             | SIG.         |
|---------------------|---------------------------|----------|------------------|---------------|--------------|
| As                  | 13,40                     | 1        | 13,40            | 0,463         | 0,512        |
| Pb                  | <b>3703,61</b>            | <b>1</b> | <b>3703,61</b>   | <b>16,208</b> | <b>0,002</b> |
| Cd                  | <b>1388,57</b>            | <b>1</b> | <b>1388,57</b>   | <b>5,732</b>  | <b>0,038</b> |
| Cu                  | 212,28                    | 1        | 212,28           | 0,859         | 0,376        |
| Zn                  | <b>2152,28</b>            | <b>1</b> | <b>2152,28</b>   | <b>8,285</b>  | <b>0,016</b> |

GL – grados de libertad; SIG – significación estadística

Sin embargo, los resultados del análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial (**Tabla III.9**) indican que no existen diferencias estadísticamente significativas en la fracción disuelta entre los tres puntos de muestreo de la Ría de Huelva.



**TABLA III.9.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial del porcentaje de fracción disuelta de los metales en las aguas de la Ría de Huelva (*nivel de significación  $p < 0,05$* ).

| % FRACCION DISUELTA | TIPO VI SUMA DE CUADRADOS | GL | MEDIA CUADRATICA | F     | SIG.  |
|---------------------|---------------------------|----|------------------|-------|-------|
| As                  | 77,60                     | 2  | 38,80            | 1,556 | 0,263 |
| Pb                  | 45,98                     | 2  | 22,99            | 0,035 | 0,966 |
| Cd                  | 0,22                      | 2  | 0,11             | 0,000 | 1,000 |
| Cu                  | 4,15                      | 2  | 2,08             | 0,007 | 0,993 |
| Zn                  | 354,35                    | 2  | 177,18           | 0,363 | 0,705 |

GL – grados de libertad; SIG – significación estadística

Con objeto de estudiar que parámetros pueden influir en la distribución de los metales disueltos en el estuario de los ríos Tinto y Odiel, se han estudiado las posibles correlaciones entre la fracción disuelta de los metales en tanto por ciento y los parámetros físico-químicos medidos en el ecosistema. Para ello y una vez comprobada la normalidad de todas las variables se ha aplicado la correlación de Pearson (paramétrica) (**Tabla III.10**). A partir de estos resultados se observa que la temperatura es el principal factor que controla la distribución de Pb en el estuario, de manera que la fracción disuelta de Pb aumenta con la temperatura. En el caso del Cd, son la salinidad y el carbono orgánico disuelto (COD) los principales factores que regulan la distribución de este metal, al aumentar la salinidad aumenta el porcentaje de fracción disuelta de Cd, mientras que al aumentar el carbono orgánico disuelto aumenta el porcentaje de fracción particulada. En este estudio no se ha encontrado correlación entre la distribución de los metales en la fracción disuelta y particulada y el contenido de los sólidos en suspensión. Así mismo, tampoco se ha hallado correlación con el pH de las aguas, a pesar de estar descrito en la bibliografía que el pH es uno de los factores principales que controlan la distribución de los metales disueltos a lo largo de los ríos Tinto y Odiel. Esto se debe a la localización de los puntos de muestreos de la Ría de Huelva, situados todos ellos en la zona de influencia marina, en los que se produce una mezcla efectiva entre las provenientes de los ríos Tinto y Odiel, y las aguas procedentes del océano Atlántico y como se indicó al hablar del pH, solo se observan ligeras variaciones de pH las cuáles no son lo suficientemente importantes como para verse reflejado su efecto en la distribución de los metales.

**TABLA III.10.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los parámetros físico-químicos y la fracción disuelta de los metales en la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* )

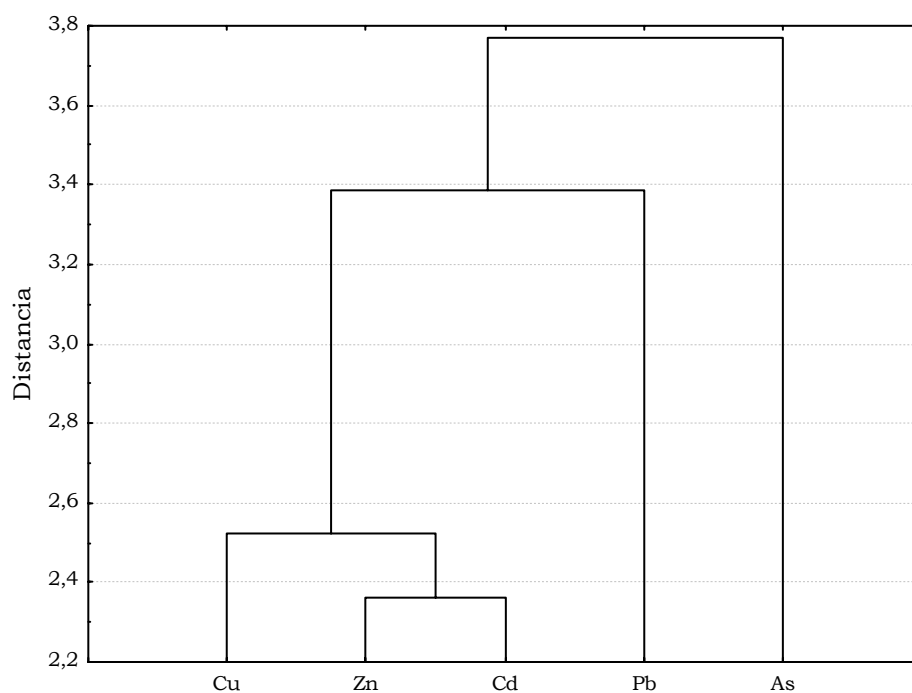
| PARÁMETRO             | As    | Pb          | Cd           | Cu    | Zn    |
|-----------------------|-------|-------------|--------------|-------|-------|
| T <sup>a</sup>        | 0,52  | <b>0,80</b> | -0,15        | -0,13 | 0,07  |
| pH                    | -0,19 | -0,41       | 0,14         | 0,29  | 0,00  |
| O <sub>2</sub>        | 0,06  | -0,23       | -0,48        | -0,34 | -0,26 |
| Salinidad             | 0,37  | 0,62        | <b>0,63</b>  | 0,03  | 0,47  |
| Sol. Susp.            | 0,04  | 0,14        | -0,27        | 0,04  | 0,16  |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | -0,06 | 0,39        | 0,48         | 0,01  | 0,14  |
| COD                   | 0,12  | 0,18        | <b>-0,66</b> | -0,19 | -0,36 |
| % M.O.<br>sedimento   | -0,16 | 0,14        | 0,32         | 0,05  | 0,12  |

Además se han estudiado las correlaciones que se establecen entre sí para las fracciones disueltas de los metales, realizándose la correlación de Pearson **Tabla III.11**). En este caso se observa que la distribución entre la fracción disuelta Zn está correlacionada de manera positiva con la fracción de Cd y de Cu, de manera que estos metales no solo tienen un comportamiento parecido en la Ría como se ha indicado anteriormente sino que tienen unos patrones de distribución similares.

En último lugar se han investigado las semejanzas en la distribución disuelto/particulado de los metales estudiados, para lo cual se ha usado el análisis de conglomerados o análisis cluster, como técnica exploratoria. En la **Figura III.12** se ha representado el dendograma correspondiente al porcentaje de las fracciones disuelta de los metales analizados en las aguas de la Ría de Huelva.

**TABLA III.11.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre las fracciones disueltas en tanto por ciento de los metales en la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* )

|    |      |     |            |            |    |
|----|------|-----|------------|------------|----|
| As | 1    |     |            |            |    |
| Pb | 0,4  | 1   |            |            |    |
| Cd | -0,2 | 0,2 | 1          |            |    |
| Cu | -0,1 | 0,2 | 0,4        | 1          |    |
| Zn | 0,1  | 0,5 | <b>0,7</b> | <b>0,7</b> | 1  |
|    | As   | Pb  | Cd         | Cu         | Zn |



**FIGURA III.12.** Dendrograma de las fracciones disueltas (en tanto por ciento) de As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua en las estaciones de la Ría de Huelva.

Como se aprecia en la figura existe una agrupación formada por Zn y Cd, mientras que el Cu se muestra muy semejante a estos metales. Por otro lado As y Pb aparecen como metales independientes. Se puede decir que los metales Zn, Cd y Cu no solo tienen un comportamiento similar en la Ría de Huelva, como se ha observado en el anterior apartado, sino que además, Zn y Cd poseen una distribución entre la fase disuelta y particulada muy similar.

#### III.2.1.3. ESPECIACIÓN DE Zn, Cd, Cu y Pb DISUELTO

El esquema de especiación aplicado (**Figura II.15**) para los metales Zn, Cd, Pb y Cu establece la distribución de las especies metálicas en seis fracciones diferentes: asociadas a la fracción particulada y la fracción disuelta distinguiendo entre el metal libre o asociado a especies inorgánicas de forma lábil, asociado a compuestos orgánicos de forma lábil, asociado a especies inorgánicas de forma poco lábil, a compuestos orgánicos de forma poco lábil y a la fracción inerte.

Las formas químicas disueltas están más disponibles que las particuladas, y dentro de las especies disueltas, las especies libres o que presenten asociación lábil representan la mayor disponibilidad metálica de un ecosistema acuático.

En el apartado anterior se ha evaluado la distribución metálica entre las fases particulada y disuelta; en este apartado se describirá la distribución metálica en la fase disuelta (los resultados correspondientes se muestran en el anexo A.3.1), comparando los porcentajes de metal en cada fase. Los resultados de la especiación de la fase disuelta se han representado en las **Figura III.13, III.14, III.15 y III.16**. Estos resultados sugieren el siguiente comportamiento para los metales en la Ría de Huelva:

-**Pb**: es el metal menos disponible, asociado principalmente a la fracción inerte, que constituye durante el segundo y tercer muestreo la única fracción de este metal. Cabe destacar que la fracción poco lábil orgánica adquiere una importancia significativa en la estación de muestreo H3 durante el primer y último muestreo (65% y 57% respectivamente), coincidiendo con los muestreos para los que el valor de COD en las aguas ha sido más alto.

-**Cd**: se encuentra mayoritariamente (entre 55 y 86%) como metal libre o asociado débilmente a la materia inorgánica, sobre todo en los puntos de

muestreo H1 y H2 y para los muestreos realizados en otoño, siendo uno de los metales más disponibles de este estudio. En los muestreos de primavera aparece asociado en un pequeño porcentaje a la fracción poco lábil inorgánica.

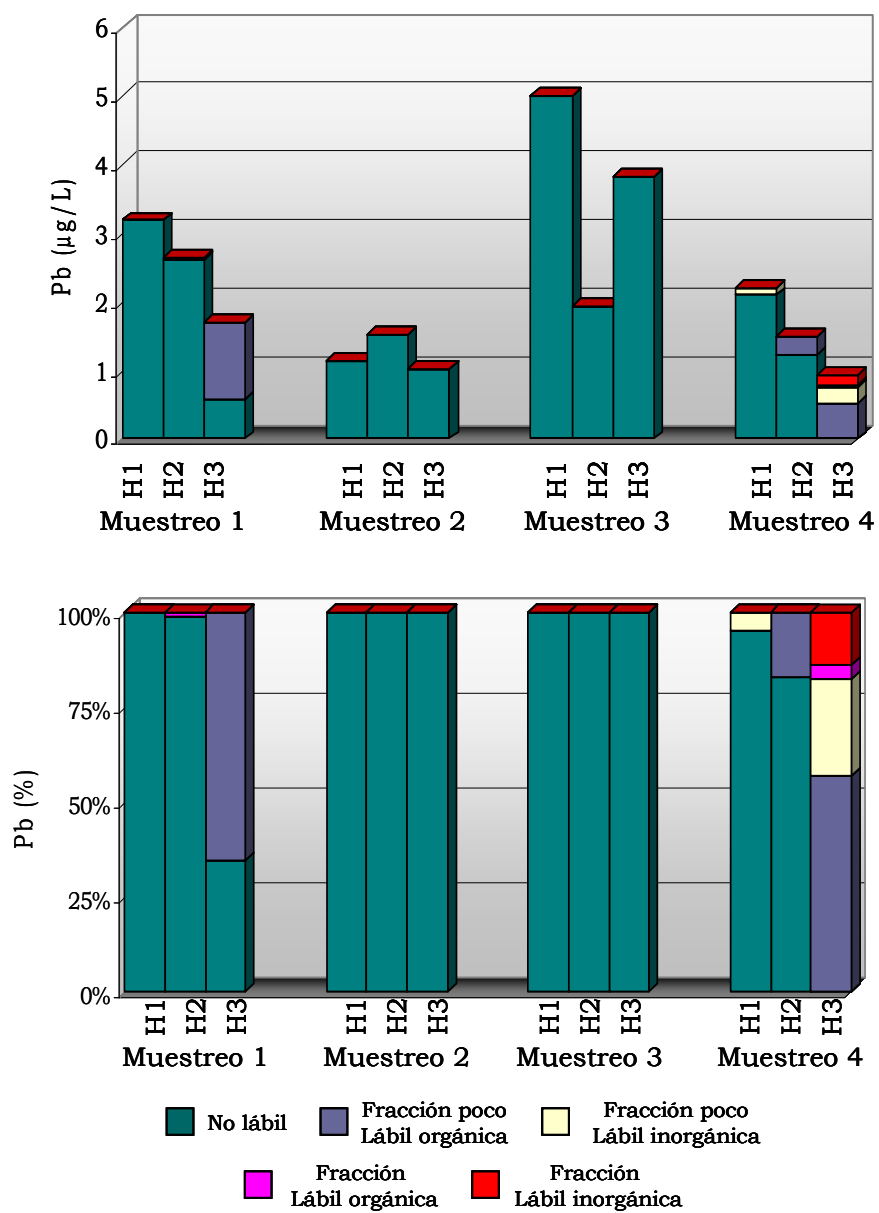
-**Cu:** aparece principalmente en su forma poco lábil, ya sea asociado a la materia orgánica o inorgánica, constituyendo en casi todos los casos estudiados las fracciones predominantes de Cu, principalmente en la estación H1. En H2 y H3 el metal se hace algo más disponible, sobre todo para el primer y tercer muestreo.

-**Zn:** durante el primer muestreo en otoño de 2004, aparece asociado a la fracción inerte y a la materia orgánica poco lábil, pero después muestra un aumento en la fracción lábil, alcanzando un máximo del 74% en la estación de muestreo H1 para la fracción lábil inorgánica durante el tercer muestreo, momento de este estudio en el que su biodisponibilidad es máxima. Por último, en el cuarto muestreo el Zn aparece asociado a la fracción poco lábil inorgánica.

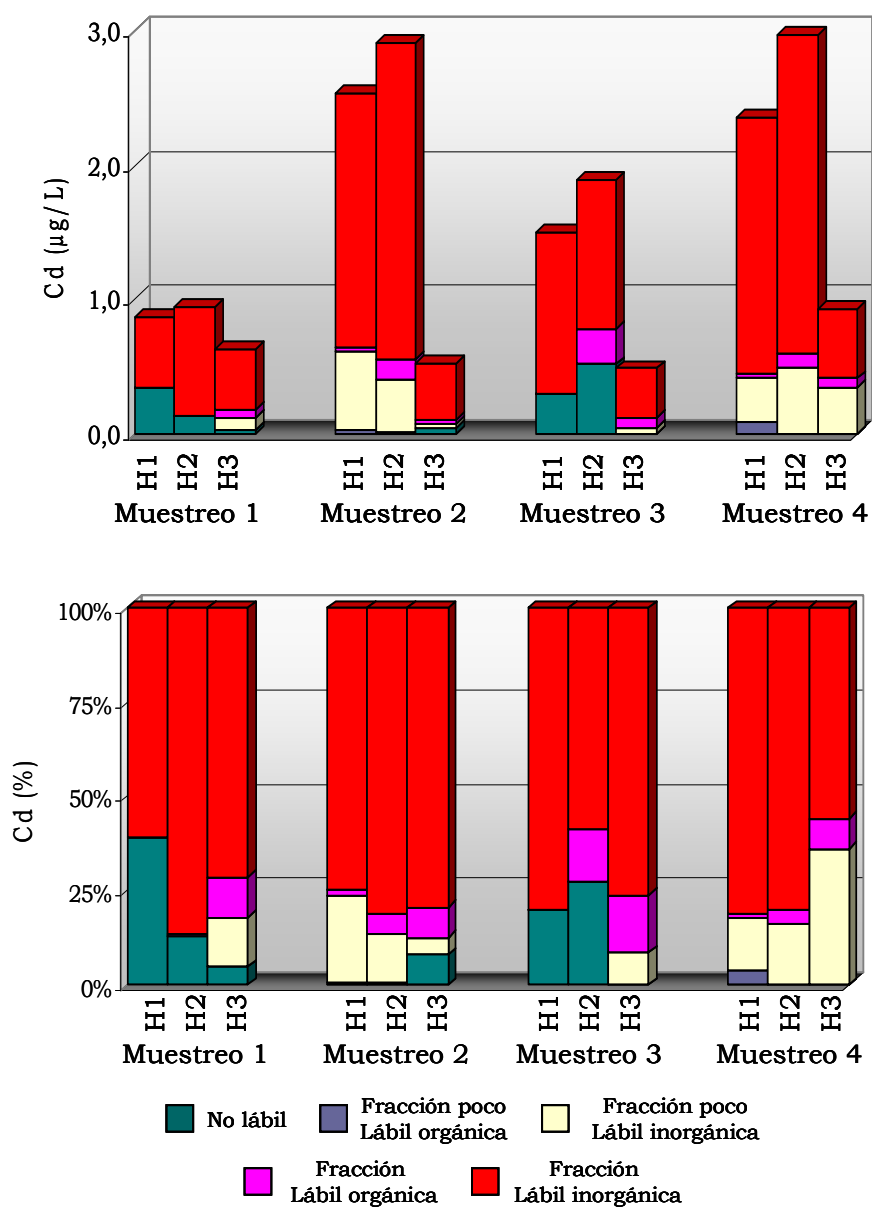
Con objeto de estudiar estadísticamente la posible influencia espacial y estacional, en los resultados obtenidos en el estudio de la especiación disuelta de Zn, Cd, Pb y Cu, y dada las características de las distribuciones de los resultados, cuyas pruebas de normalidad y homogeneidad se muestran en el anexo A.4, se han aplicado los correspondientes análisis no paramétricos de comparación de las varianzas. El análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto estacional (otoño-primavera) que se muestra en la **Tabla III.12**, desvela la influencia estacional en la especiación de Cd para las fracciones no lábil y poco lábil inorgánica. Este metal, como se ha comentado anteriormente, es uno de los más disponibles en la Ría de Huelva, por ser su fracción mayoritaria la fracción lábil inorgánica, sin embargo se puede observar como en otoño la fracción inerte es ligeramente significativa en la distribución de Cd, mientras que en los muestreos de primavera la fracción inerte desaparece y aumenta la fracción poco lábil inorgánica. Del mismo modo, el análisis de Kruskal-Wallis muestra influencia estacional de estas mismas fracciones para el Zn. En la **Figura III.16** se observa que para el Zn, estas fracciones siguen las mismas pautas de comportamiento que las comentadas anteriormente en el caso del Cd, pero menos acusada. Es decir, se produce un aumento de la fracción inerte en los muestreos de otoño y un incremento de la fracción poco lábil inorgánica en los muestreos de primavera. Esta similitud en las influencias estacionales del Cd y Zn confirma el comportamiento geoquímico

similar que ambos metales presentan en el estuario y que ya se ha indicado cuando se ha estudiado el contenido total y la distribución entre las fases sólidas y disueltas de los metales en las aguas. Por último, el análisis de comparación de las varianzas revela que la fracción poco lábil orgánica de Cu está influenciada por la época del muestreo, de manera que el porcentaje de esta fracción aumenta en los muestreos llevados a cabo en primavera.

Con respecto a la influencia espacial en la especiación de los metales disueltos en la Ría de Huelva solo se han hallado evidencias estadísticas de las mismas para dos de los metales estudiados (**Tabla III.13**). Para Cd, el porcentaje de la fracción lábil orgánica disuelta presenta diferencias significativas entre los puntos de muestreo. En el caso del Cu es el porcentaje de su fracción poco lábil inorgánica la que presenta diferencias estadísticas significativas entre los puntos de muestreo. Así mismo se ha identificado entre cuales de los tres puntos de muestreo de la Ría de Huelva se establecen estas diferencias empleando para ello el análisis de comparación múltiple (no paramétrico). Los resultados obtenidos para este test se muestran en la **Tabla III.14** y la **Tabla III.15**. Estos resultados identifican que existen diferencias significativas entre la estación H1 (Odiel) y H3 (canal del Padre Santo) en el contenido de Cd en la fracción lábil orgánica disuelta. El Cd asociado débilmente a la materia orgánica es una fracción significativa que siempre aparece en el punto de muestreo H3. Mientras, en el punto H1 constituye una fracción muy pequeña del total del Cd disuelto, que solo aparece en los muestreos de primavera. Para la fracción de Cu poco lábil inorgánico, no se han encontrado diferencias estadísticas entre puntos de muestreo para  $p < 0,05$ , pero es muy cercano a este valor (0,056) entre los puntos de muestreo H1 con H2 y entre H1 y H3. En la figura se observa que la fracción poco lábil inorgánica es de las fracciones más importantes a lo largo de todas las campañas de muestreo, no ocurre lo mismo en las estaciones H2 y H3.

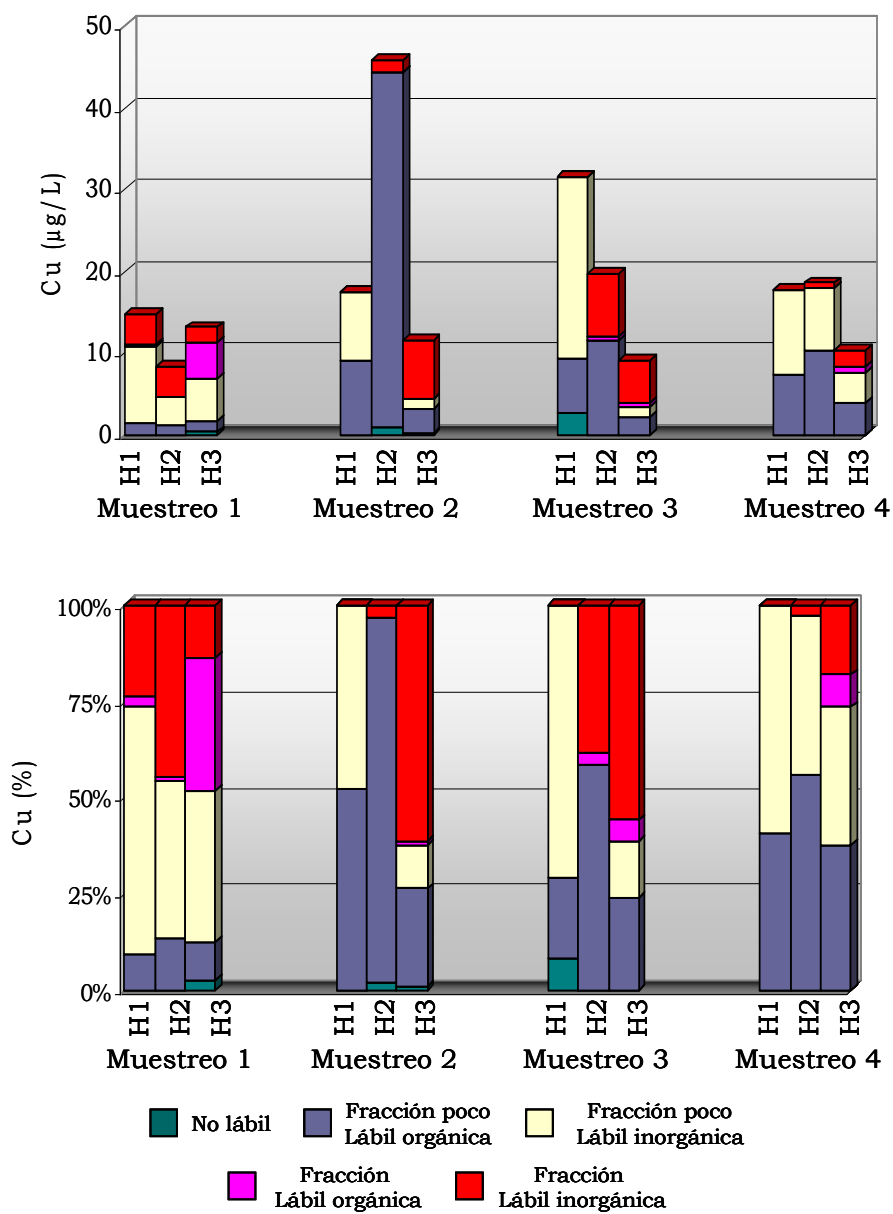


**FIGURA III.13.** Especiación de Pb disuelto en aguas de la Ría de Huelva.

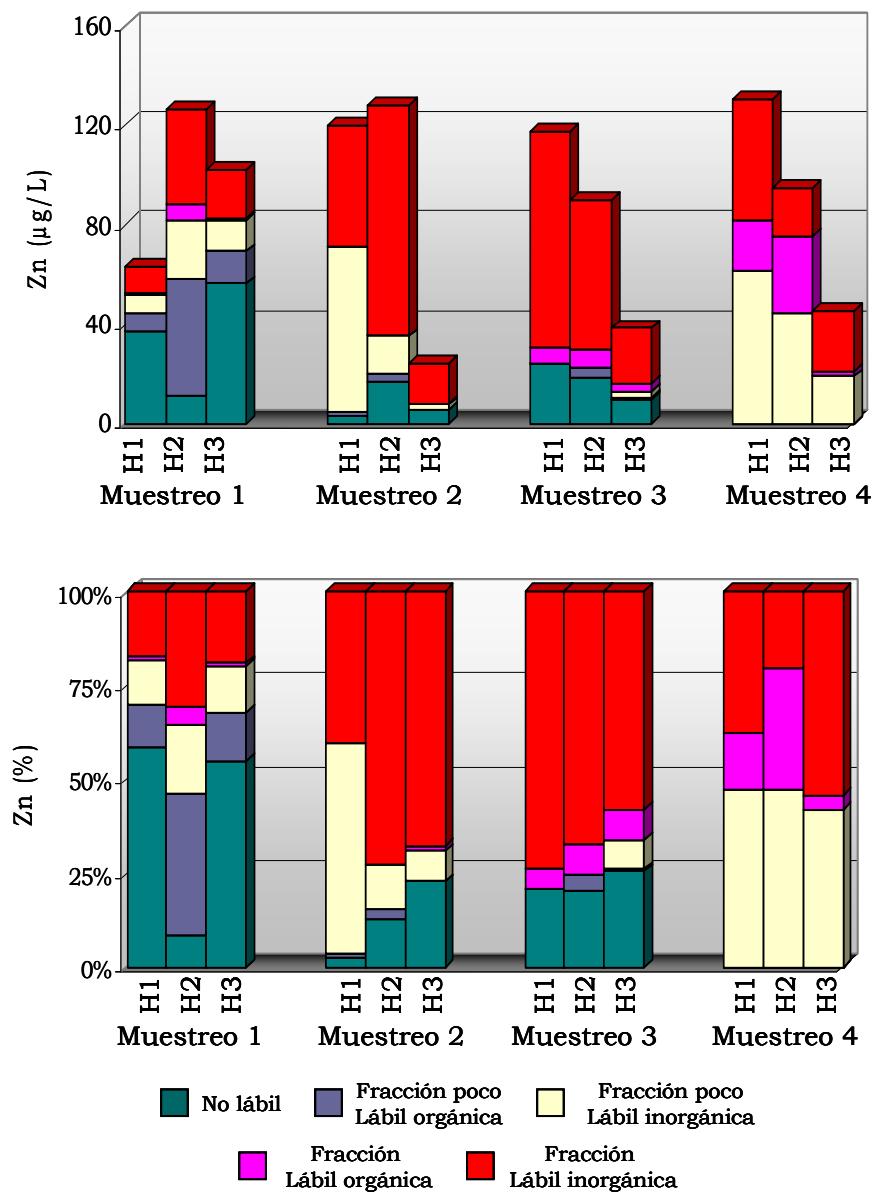


**FIGURA III.14.** Especiación de Cd disuelto en aguas de la Ría de Huelva.





**FIGURA III.15.** Especiación de Cu disuelto en aguas de la Ría de Huelva.



**FIGURA III.16.** Especiación de Zn disuelto en aguas de la Ría de Huelva.

**TABLA III.12.** *Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto estacional de la especiación de Pb, Cd, Cu y Zn disueltos en las aguas de la Ría de Huelva (grado de libertad 1, 12 casos y nivel de significación  $p < 0,05$ ).*

| FRACCIONES                         | H            | SIG.         |
|------------------------------------|--------------|--------------|
| Pb% fracción lábil inorgánica      | 1            | 0,317        |
| Pb % fracción lábil orgánica       | 0,015        | 0,902        |
| Pb% fracción poco lábil inorgánica | 2,182        | 0,140        |
| Pb % fracción poco lábil orgánica  | 0            | 1            |
| Pb % fracción no lábil             | 0,510        | 0,475        |
| Cd% fracción lábil inorgánica      | 0,231        | 0,631        |
| Cd % fracción lábil orgánica       | 0            | 1            |
| Cd% fracción poco lábil inorgánica | <b>6,802</b> | <b>0,009</b> |
| Cd % fracción poco lábil orgánica  | 0,707        | 0,401        |
| Cd % fracción no lábil             | <b>4,659</b> | <b>0,031</b> |
| Cu% fracción lábil inorgánica      | 1,274        | 0,259        |
| Cu % fracción lábil orgánica       | 2,398        | 0,122        |
| Cu% fracción poco lábil inorgánica | 0,161        | 0,688        |
| Cu % fracción poco lábil orgánica  | <b>4,333</b> | <b>0,037</b> |
| Cu % fracción no lábil             | 0,145        | 0,703        |
| Zn% fracción lábil inorgánica      | 0,231        | 0,631        |
| Zn % fracción lábil orgánica       | 0,103        | 0,748        |
| Zn% fracción poco lábil inorgánica | <b>4,349</b> | <b>0,037</b> |
| Zn % fracción poco lábil orgánica  | 3,514        | 0,061        |
| Zn % fracción no lábil             | <b>5,097</b> | <b>0,024</b> |

**TABLA III.13.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto espacial de la especiación de Pb, Cd, Cu y Zn disuelto en las aguas de la Ría de Huelva (grado de libertad 2, 12 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| FRACCIONES                         | H            | SIG.         |
|------------------------------------|--------------|--------------|
| Pb% fracción lábil inorgánica      | 2            | 0,377        |
| Pb % fracción lábil orgánica       | 1,114        | 0,573        |
| Pb% fracción poco lábil inorgánica | 1,114        | 0,573        |
| Pb % fracción poco lábil orgánica  | 2,832        | 0,243        |
| Pb % fracción no lábil             | 1,196        | 0,550        |
| Cd% fracción lábil inorgánica      | 2,192        | 0,334        |
| Cd % fracción lábil orgánica       | <b>7,063</b> | <b>0,029</b> |
| Cd% fracción poco lábil inorgánica | 0,518        | 0,772        |
| Cd % fracción poco lábil orgánica  | 0,066        | 0,967        |
| Cd % fracción no lábil             | 0,786        | 0,675        |
| Cu% fracción lábil inorgánica      | 4,837        | 0,089        |
| Cu % fracción lábil orgánica       | 5,689        | 0,058        |
| Cu% fracción poco lábil inorgánica | <b>7,411</b> | <b>0,025</b> |
| Cu % fracción poco lábil orgánica  | 2,923        | 0,232        |
| Cu % fracción no lábil             | 0,422        | 0,810        |
| Zn% fracción lábil inorgánica      | 0,115        | 0,944        |
| Zn % fracción lábil orgánica       | 0,357        | 0,837        |
| Zn% fracción poco lábil inorgánica | 0,299        | 0,861        |
| Zn % fracción poco lábil orgánica  | 0,966        | 0,617        |
| Zn % fracción no lábil             | 1,404        | 0,496        |

**TABLA III.14.** Análisis de Comparación Múltiple de Medias de dos colas para la fracción de Cd lábil orgánica disuelta con respecto a los puntos de muestreo (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| PUNTO DE MUESTREO | p            |       |
|-------------------|--------------|-------|
|                   | H1           | H2    |
| H2                | 0,424        |       |
| H3                | <b>0,024</b> | 0,718 |

**TABLA III.15.** Análisis de Comparación Múltiple de Medias de dos colas para la fracción de Cu poco lábil inorgánica disuelta con respecto a los puntos de muestreo (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| PUNTO DE MUESTREO | p     |    |
|-------------------|-------|----|
|                   | H1    | H2 |
| H2                | 0,056 |    |
| H3                | 0,056 | 1  |

Se han buscado posibles relaciones entre la especiación disuelta de los metales estudiados y las variables geoquímicas, calculando para ello las correlaciones de Spearman (no paramétrico) de las distintas fracciones disueltas (en tanto por ciento) con los parámetros físico-químicos. Las relaciones encontradas para Pb, Cd, Cu y Zn se recogen de la **Tabla III.16** a la **Tabla III.19**.

En el caso del Pb, la distribución entre las distintas fracciones disueltas está controlada principalmente por el carbono orgánico disuelto (COD) que controla la transferencia entre las dos fracciones mayoritarias en las que aparece este metal. La fracción no lábil que es la más importante en la especiación del Pb disuelto disminuye al aumentar el COD, mientras que aumenta el porcentaje de la fracción poco lábil orgánica. Otra correlación que se ha hallado es la que se establece de forma positiva entre el contenido de sólidos en suspensión y la fracción lábil orgánica.

**TABLA III.16.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Pb disuelto en la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** )

| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | -0,22                       | 0,06                      | -0,03                            | 0,33                           | -0,36               |
| pH                 | 0,04                        | -0,23                     | -0,29                            | -0,21                          | 0,41                |
| O <sub>2</sub>     | 0,13                        | -0,16                     | 0,37                             | -0,15                          | -0,10               |
| Salinidad          | -0,09                       | 0,26                      | -0,34                            | 0,09                           | 0,16                |
| Sol. Susp.         | 0,48                        | <b>0,65</b>               | 0,53                             | 0,35                           | -0,50               |
| % M.O. (Sol.Susp.) | -0,43                       | -0,02                     | -0,55                            | -0,13                          | 0,37                |
| COD                | 0,31                        | 0,33                      | 0,57                             | <b>0,61</b>                    | <b>-0,83</b>        |
| % M.O. sedimento   | -0,31                       | -0,04                     | -0,39                            | 0,01                           | 0,15                |

Cuatro son los parámetros físico-químicos que muestran una mayor correlación con la especiación de Cd disuelto. Estos parámetros son el oxígeno disuelto, la salinidad, el porcentaje de materia orgánica en la materia en suspensión y el porcentaje de materia orgánica en los sedimentos. Estos parámetros controlan el paso de Cd no lábil a sus formas poco lábiles, tanto orgánico como inorgánico, y viceversa. El aumento de salinidad y la materia orgánica en la materia en suspensión provoca una disminución de la fracción poco lábil inorgánica y un aumento de la fracción no lábil. Este mismo efecto se produce cuando ocurre un aumento en el contenido de materia orgánica en los sedimentos. Sin embargo, el oxígeno disuelto ejerce el efecto contrario, un aumento de este parámetro provoca una disminución del porcentaje de fracción no lábil de Cd y un aumento de las fracciones poco lábil. Se observa también en la **Tabla III.17** que la fracción más disponible, la lábil inorgánica que además es la fracción mayoritaria en la especiación de Cd no depende de los parámetros estudiados, y por tanto se puede concluir que el Cd, se encuentra en las aguas de Huelva mayoritariamente en forma disponible independientemente de las condiciones del medio.

**TABLA III.17.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cd disuelto en la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | 0,03                        | -0,25                     | -0,34                            | 0,27                           | 0,27                |
| pH                 | -0,17                       | 0,50                      | 0,15                             | -0,39                          | -0,13               |
| O <sub>2</sub>     | 0,06                        | 0,29                      | <b>0,60</b>                      | <b>0,74</b>                    | <b>-0,82</b>        |
| Salinidad          | -0,15                       | -0,05                     | <b>-0,72</b>                     | -0,46                          | <b>0,63</b>         |
| Sol. Susp.         | 0,31                        | -0,01                     | 0,39                             | 0,42                           | -0,56               |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,00                        | -0,10                     | <b>-0,64</b>                     | -0,57                          | <b>0,69</b>         |
| COD                | 0,04                        | -0,28                     | 0,29                             | 0,39                           | -0,20               |
| % M.O. sedimento   | -0,03                       | -0,38                     | <b>-0,62</b>                     | -0,44                          | <b>0,78</b>         |

**TABLA III.18.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cu disuelto en la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | 0,05                        | 0,36                      | 0,41                             | -0,57                          | -0,24               |
| pH                 | 0,28                        | 0,08                      | -0,55                            | 0,14                           | 0,46                |
| O <sub>2</sub>     | -0,24                       | -0,23                     | 0,01                             | 0,42                           | -0,29               |
| Salinidad          | 0,56                        | 0,56                      | 0,06                             | <b>-0,80</b>                   | 0,08                |
| Sol. Susp.         | 0,04                        | -0,05                     | 0,02                             | 0,13                           | -0,37               |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,40                        | 0,20                      | -0,16                            | -0,32                          | 0,03                |
| COD                | -0,44                       | 0,08                      | 0,43                             | -0,08                          | -0,22               |
| % M.O. sedimento   | -0,08                       | 0,02                      | 0,19                             | -0,16                          | 0,09                |

El Cu es el metal cuya especiación está menos influenciada por los parámetros físico-químicos, para el que sólo se ha encontrado correlación entre la salinidad y la fracción poco lábil orgánica. Ésta es una fracción muy importante en la especiación del Cu disuelto, que en algunos casos es la fracción mayoritaria y cuyo porcentaje disminuye al aumentar la salinidad de las aguas.

En el caso del Zn, la fracción más disponible, la lábil inorgánica, está correlacionada significativamente con la temperatura de forma negativa. Las fracciones para las que se han hallado mayor número de correlaciones son las menos disponibles, poco lábil orgánica e inerte. Ambas están correlacionadas de forma positiva con la salinidad, además la fracción inerte de Zn disuelto en las aguas disminuye al aumentar el contenido de sólidos en suspensión en las aguas. Por su parte, la fracción poco lábil orgánica también está correlacionada con el nivel de oxígeno en las aguas y con el porcentaje de materia orgánica tanto en sólidos en suspensión como en sedimentos, de manera que esta fracción aumenta en las aguas al aumentar el contenido en materia orgánica en sólidos en suspensión y sedimentos y disminuye al aumentar el oxígeno disuelto en las aguas.

**TABLA III.19.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Zn disuelto en la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | <b>-0,77</b>                | 0,29                      | 0,06                             | 0,42                           | 0,24                |
| pH                 | 0,53                        | -0,57                     | -0,28                            | 0,02                           | 0,38                |
| O <sub>2</sub>     | 0,22                        | 0,51                      | 0,29                             | <b>-0,76</b>                   | -0,48               |
| Salinidad          | -0,20                       | -0,17                     | -0,51                            | <b>0,66</b>                    | <b>0,70</b>         |
| Sol. Susp.         | 0,06                        | 0,52                      | 0,40                             | -0,52                          | <b>-0,70</b>        |
| % M.O. (Sol.Susp.) | -0,22                       | -0,47                     | 0,29                             | <b>0,95</b>                    | 0,55                |
| COD                | -0,57                       | 0,40                      | 0,51                             | -0,21                          | -0,49               |
| % M.O. sedimento   | -0,21                       | -0,12                     | -0,27                            | <b>0,58</b>                    | 0,25                |



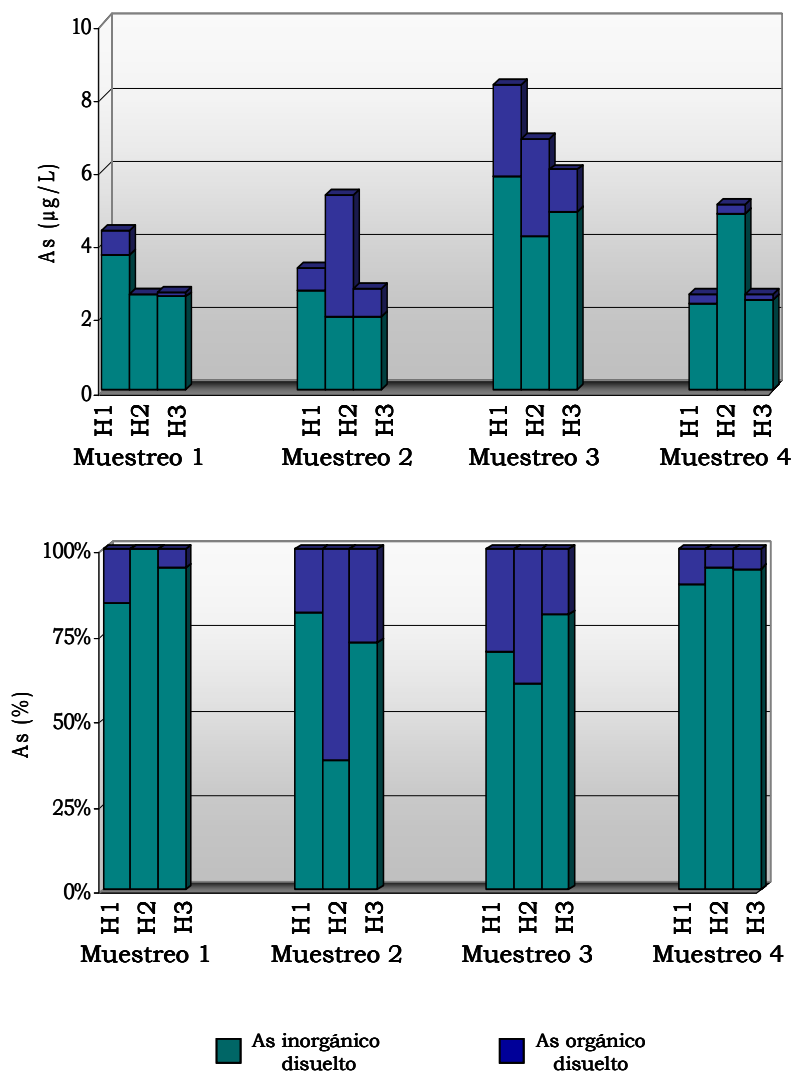
Basándonos en estos estudios de especiación metálica disuelta, los elementos estudiados pueden ser ordenados según su disponibilidad como sigue  $Cd > Zn > Cu > Pb$ .

#### III.2.1.4. ESPECIACIÓN DE As DISUELTO

La especiación de As realizada diferencia en la fracción disuelta entre las especies inorgánicas y orgánicas, siendo los compuestos inorgánicos las especies más tóxicas, los datos obtenidos se muestran en el anexo A.3.1. La especiación de As y el porcentaje de cada especie sobre el total disuelto se recogen en la **Figura III.17**. En ella se observa como de forma general el arsénico inorgánico es predominante en la Ría de Huelva. A partir de los datos representados en la figura se puede distinguir dos situaciones: en el otoño del año 2004 y la primavera del año 2006 el As inorgánico constituía entre el 80 y el 95% del contenido total de As en la fracción disuelta, mientras que en los muestreos realizados durante todo el año 2005 se observó un aumento de la fracción orgánica sobre el total, llegando a convertirse en la fracción predominante en las aguas de Río Tinto en la primavera del año 2005 (más del 60% del contenido de As disuelto). Hay que recordar que As es el metal más disponible en las aguas de Huelva, como se ha indicado anteriormente, y se encuentra de forma mayoritaria disuelto en forma inorgánica que son las especies más tóxicas, por lo tanto sus niveles en agua son potencialmente peligrosos.

Con objeto de estudiar la influencia estacional y espacial que pueda presentar la especiación de As disuelto en las aguas de la Ría de Huelva se ha realizado el análisis de la varianza. Dado que la especiación distingue entre solo dos fases y se va a realizar este estudio para las fracciones expresadas como porcentaje, solo es necesario una de ellas para la realización de este estudio ya que las conclusiones alcanzadas en estos estudios son válidas para ambas, de manera que se elige el porcentaje de fracción de As inorgánico para estudiar la influencia estacional y espacial de la especiación de As disuelto. Previamente, se ha comprobado la normalidad y homogeneidad de las varianzas aplicando los estadísticos apropiados y cuyos resultados se muestran en el anexo A.4. En este caso el porcentaje de As inorgánico es una distribución normal que cumple la homogeneidad de la varianza respecto a la campaña de muestreo pero no la cumple con respecto a los puntos de muestreo, por eso se ha realizado el análisis de la varianza (ANOVA)

(paramétrico) del efecto estacional (otoño-primavera) en la especiación de As disuelto (**Tabla III.20**), pero se ha realizado el análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) (no paramétrico) del efecto espacial en la Ría de Huelva (**Tabla III.21**). No se han encontrado diferencias estadísticas significativas en los valores de la especiación de As disuelto, ni entre los muestreos de primavera y otoño, ni entre los puntos de muestreo.



**FIGURA III.17.** Especiación de As disuelto en aguas de la Ría de Huelva

**TABLA III.20.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional de la especiación de As disuelto en las aguas de la Ría de Huelva (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| FRACCIÓN                 | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F | SIG.  |
|--------------------------|---------------------------------|----|---------------------|---|-------|
| As % fracción inorgánica | 32,74                           | 1  | 32,74               | 0 | 0,763 |

**TABLA III.21.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto espacial de la especiación de As disuelto en las aguas de la Ría de Huelva (grado de libertad 2, 12 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| FRACCIÓN                 | H     | SIG.  |
|--------------------------|-------|-------|
| As % fracción inorgánica | 0,154 | 0,926 |

Al igual que se hizo en el caso de la especiación disuelta de Zn, Cd, Pb y Cu, se han calculado las correlaciones de Pearson de la fracciones disueltas de arsénico (en tanto por ciento) con los parámetros físico-químicos, con objeto de encontrar la existencia de relaciones entre la especiación disuelta de As y las variables geoquímicas (**Tabla III.22**). No se ha hallado ninguna correlación estadísticamente significativa. Esto unido a que la especiación de As no presenta influencias espaciales ni estacionales lleva a la conclusión que la especiación del As disuelto en las aguas no depende de las condiciones del medio, encontrándose habitualmente el As de las aguas de Huelva en forma inorgánica.

**TABLA III.22.** Coeficientes de la correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y la especiación de As disuelto en la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** )

| FRACCIÓN                 | T <sup>a</sup> | pH    | O <sub>2</sub> | Salinidad | Sol.<br>Susp. | % M.O.<br>(Sol.Susp.) | COD  | % M.O.<br>sedimento |
|--------------------------|----------------|-------|----------------|-----------|---------------|-----------------------|------|---------------------|
| As % fracción inorgánica | 0,63           | -0,41 | 0,11           | 0,26      | 0,16          | -0,08                 | 0,46 | -0,11               |

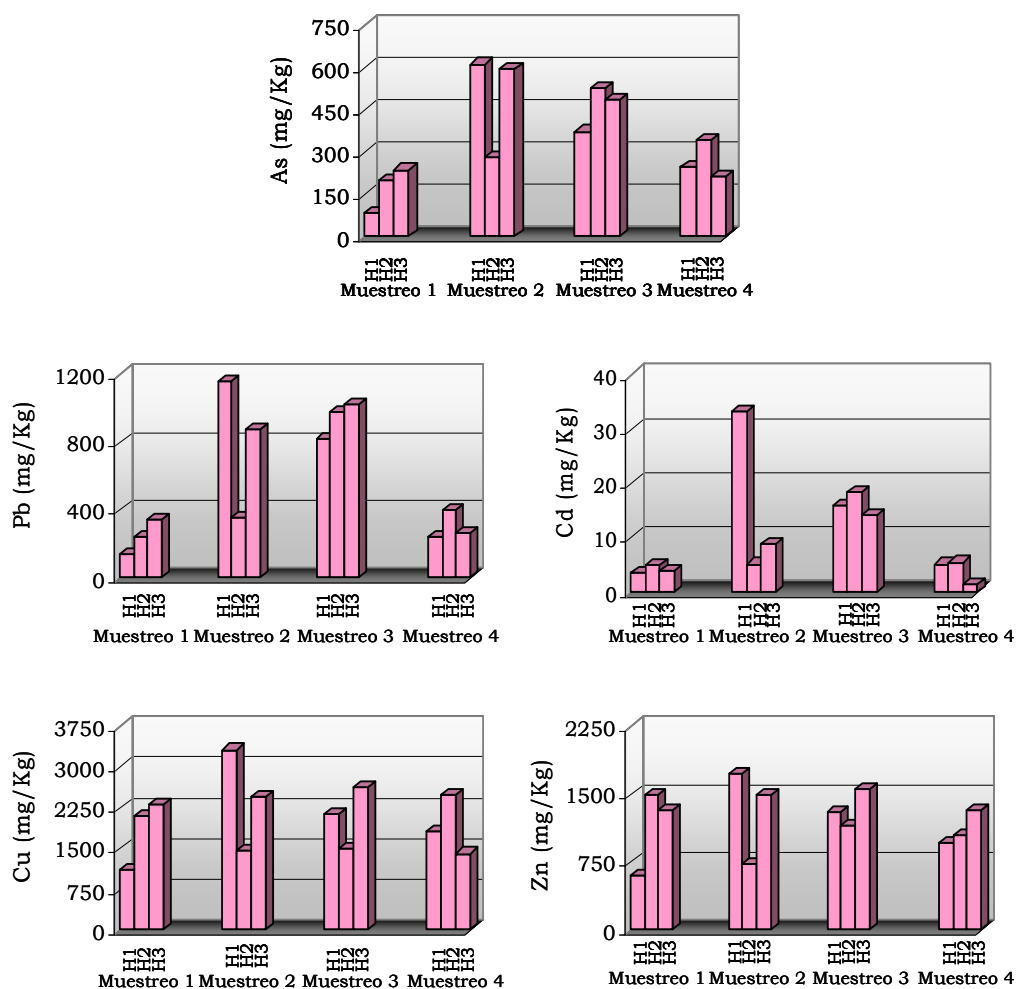
### III.2.2. CONTENIDO METÁLICO EN SEDIMENTO

---

#### III.2.2.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN SEDIMENTO

Los estuarios son zonas complejas de interacción entre los procesos fluviales y marinos que pueden actuar como trampas geoquímicas para enlazar los metales pesados en la fracción fina de los sedimentos. En estos sistemas costeros, se mezclan las aguas dulces continentales con las aguas marinas de elevada salinidad, lo que normalmente provoca que se aceleren los procesos de deposición de la materia suspendida en los sedimentos, favoreciendo la acumulación de los metales absorbidos en las partículas arcillosas [FERNÁNDEZ CALIANI y col., 1997]. Numerosos autores [MORILLO y col., 2002; MORILLO y col., 2003; GALAN y col., 2003] han descrito que los metales pesados que son transportados por los ríos Tinto y Odiel presentan una gran afinidad por la fracción arcillosa, lo cual hace que el contenido metálico en los sedimentos del estuario sea mayor que el de los sedimentos de los ríos, debido a los procesos de co-precipitación que tienen lugar cuando las aguas de los ríos enriquecidas con metales pesados se mezclan con las aguas de mar.

Los niveles de concentración totales de los metales en sedimentos en los puntos la Ría de Huelva se muestran en la **Figura III.18**. Los niveles totales de los metales hallados en la Ría de Huelva están dentro de los siguientes intervalos: As: 85,1–615,4 mg Kg<sup>-1</sup>; Pb: 13,8–1166,7 mg Kg<sup>-1</sup>; Cd: 1,5–33,2 mg Kg<sup>-1</sup>; Cu: 1115,7–3333,6 mg Kg<sup>-1</sup> y Zn: 602,94–1736,9 mg Kg<sup>-1</sup>. El contenido medio es: As: 351,29 mg Kg<sup>-1</sup>; Pb: 571,96 mg Kg<sup>-1</sup>; Cd: 9,98 mg Kg<sup>-1</sup>; Cu: 2073,78 mg Kg<sup>-1</sup> y Zn: 1233,20 mg Kg<sup>-1</sup>; y. A partir de estos datos se pueden ordenar los metales de mayor a menor contenido medio en el estuario como sigue: Cu > Zn > Pb > As > Cd. Una comparación entre esta clasificación con los resultados descritos anteriormente de la distribución de metales disueltos y particulados en agua, indica como aquellos metales con mayor porcentaje en la fracción particulada (Cu, Pb y Zn) son los que presentan un contenido mayor en los sedimentos. Los mayores niveles metálicos se hallan en el punto de muestreo H1 en el muestreo de abril del 2005, mientras que los niveles más bajos se encuentran también en el punto H1 para el muestreo de octubre del 2004.



**FIGURA III.18.** Concentración total de As, Pb, Cd, Cu y Zn en sedimentos en las estaciones de la Ría de Huelva, para cada campaña de muestreo.

Se ha estudiado la influencia estacional y espacial de los valores de concentración total de los metales. Las concentraciones de los metales estudiados se ajustan a una distribución normal a excepción del Cd, en cuyo caso ha sido necesario aplicar una transformación logarítmica para asegurar la normalidad de esta variable. Para llevar a cabo este estudio se ha realizado el análisis de la varianza (ANOVA) con respecto a las campañas de muestreo, efecto estacional (otoño-primavera), y con respecto a los puntos de muestreo, efecto espacial; los resultados se muestran en la **Tabla III.23** y la **Tabla III.24**, respectivamente. Como se ve en las tablas la concentración total de los metales en los sedimentos no tiene ni influencia estacional ni espacial.

**TABLA III.23.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional en los niveles de metales en los sedimentos de la Ría de Huelva (*nivel de significación  $p<0,05$* ).

| METALES         | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|-----------------|---------------------------------|----|---------------------|-------|-------|
| As              | 12528                           | 1  | 12528               | 0,402 | 0,540 |
| Pb              | 4396                            | 1  | 4396                | 0,029 | 0,867 |
| Cd <sup>1</sup> | 0,033                           | 1  | 0,033               | 0,216 | 0,652 |
| Cu              | 111161                          | 1  | 111161              | 0,257 | 0,623 |
| Zn              | 1916                            | 1  | 1916                | 0,015 | 0,905 |

GL – grados de libertad; SIG – significación estadística; <sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))

**TABLA III.24.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial en los niveles de metales en los sedimentos de la Ría de Huelva (*nivel de significación  $p<0,05$* ).

| METALES         | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|-----------------|---------------------------------|----|---------------------|-------|-------|
| As              | 6606                            | 2  | 3303                | 0,094 | 0,912 |
| Pb              | 37883                           | 2  | 18942               | 0,116 | 0,891 |
| Cd <sup>1</sup> | 0,153                           | 2  | 0,076               | 0,493 | 0,627 |
| Cu              | 209622                          | 2  | 104811              | 0,224 | 0,804 |
| Zn              | 236922                          | 2  | 118461              | 1,020 | 0,399 |

GL – grados de libertad; SIG – significación estadística; <sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))

Del mismo modo que se ha realizado para los niveles metálicos en las aguas, se han estudiado las posibles correlaciones entre los parámetros físico-químicos y parámetros generales con los niveles totales de los metales en los sedimentos. Para ello se ha realizado la correlación lineal paramétrica de Pearson (**TABLA III.25**), realizando transformación logarítmica de los datos cuando ha sido necesario. Se han obtenido las siguientes relaciones: As y Pb están correlacionados negativamente con la temperatura y el contenido de carbono orgánico disuelto; el As además correlaciona de manera positiva con el pH de las aguas. El Cd es otro metal que muestra correlación negativa con el carbono orgánico disuelto. La concentración total de Cu y Zn en los sedimentos de Huelva no se ve afectada por los parámetros físico-químicos y generales de las aguas y los sedimentos.

**TABLA III.25.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los parámetros físico-químicos y parámetros generales con los niveles totales de metales en los sedimentos de la Ría de Huelva (nivel de probabilidad  $p < 0,05$ ).

| PARÁMETRO          | As           | Pb           | Cd <sup>1</sup> | Cu    | Zn    |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|-------|-------|
| T <sup>a</sup>     | <b>-0,69</b> | <b>-0,58</b> | -0,37           | -0,28 | -0,32 |
| pH                 | <b>0,58</b>  | 0,50         | 0,28            | 0,40  | 0,34  |
| O <sub>2</sub>     | 0,37         | 0,30         | 0,24            | 0,51  | 0,24  |
| Salinidad          | -0,13        | 0,07         | -0,01           | -0,20 | 0,22  |
| Sol. Susp.         | 0,06         | -0,05        | -0,24           | 0,15  | 0,39  |
| % M.O. (Sol.Susp.) | -0,05        | 0,04         | 0,20            | -0,17 | -0,06 |
| COD                | <b>-0,58</b> | <b>-0,67</b> | <b>-0,61</b>    | -0,25 | -0,34 |
| % M.O. sedimento   | -0,22        | -0,22        | -0,01           | -0,47 | -0,38 |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))

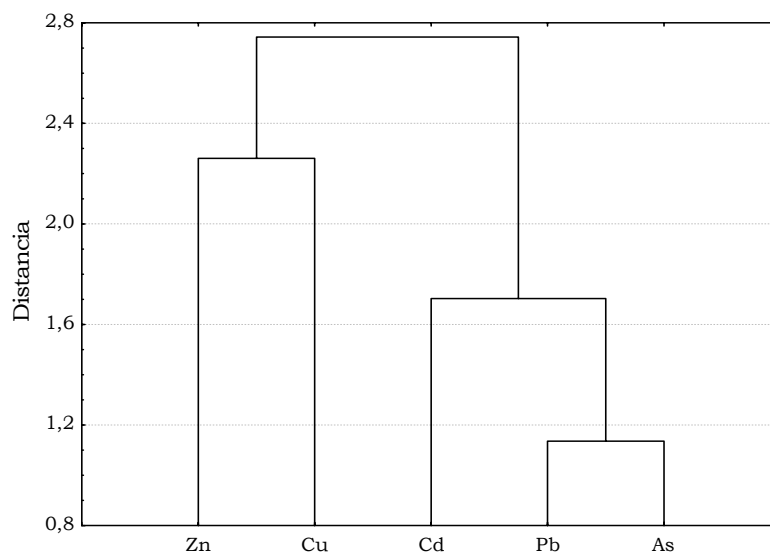
El contenido de todos los metales estudiados en los sedimentos de la Ría de Huelva está estrechamente correlacionado entre sí, como se deduce de la **Tabla III.26**, en la que se ha representado los coeficientes de correlación de Pearson para la concentración total de los metales en sedimento. Los coeficientes de correlación más elevados, próximos a la unidad, se dan en las correlaciones de los metales As, Pb y Cd entre sí. Por otro lado los metales que presentan menor correlación son Zn y Cd. Estas correlaciones se ven reforzadas por la agrupación que se observa en los metales cuando se realiza el análisis de conglomerados o análisis cluster. En la **Figura III.19** se observa

que se establecen dos grupos claramente diferenciados, por un lado se agrupa los niveles de Zn y Cu, y por otro, el grupo está formado por Cd, As y Pb, aunque se observa una agrupación más próxima entre estos dos últimos elementos. Si se comparan estos resultados de los sedimentos con las agrupaciones encontradas para las concentraciones metálicas en agua puede observarse el mismo agrupamiento para Pb y As y para Zn y Cu, siendo Cd el metal que cambia de grupo.

**TABLA III.26.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los niveles totales de metales en los sedimentos de la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|                 |             |             |                 |             |    |
|-----------------|-------------|-------------|-----------------|-------------|----|
| As              | 1           |             |                 |             |    |
| Pb              | <b>0,94</b> | 1           |                 |             |    |
| Cd <sup>1</sup> | <b>0,82</b> | <b>0,90</b> | 1               |             |    |
| Cu              | <b>0,66</b> | <b>0,63</b> | 0,61            | 1           |    |
| Zn              | <b>0,61</b> | <b>0,63</b> | 0,46            | <b>0,77</b> | 1  |
|                 | As          | Pb          | Cd <sup>1</sup> | Cu          | Zn |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente (log(x))



**FIGURA III.19.** Dendrograma de las concentraciones de As, Pb, Cd, Cu y Zn en los sedimentos de las estaciones de la Ría de Huelva.



### III.2.2.2. ESPECIACIÓN METÁLICA EN LOS SEDIMENTOS

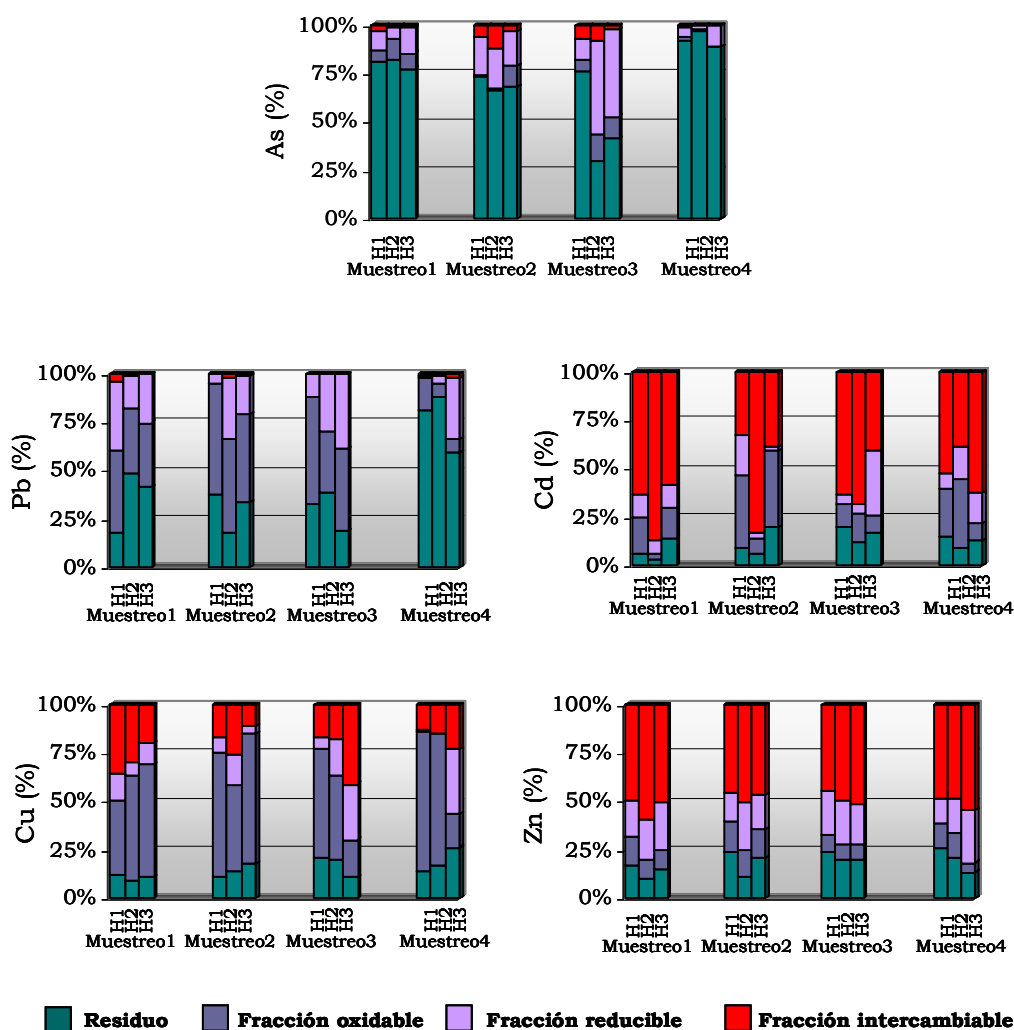
Como se ha indicado anteriormente, el esquema de extracción secuencial metálica de sedimentos, propuesto por el Programa de Medición y Ensayo de la Comisión Europea (BCR), y aplicado en el presente estudio para los metales As, Pb, Cd, Cu y Zn separa las especies metálicas en tres fases correspondientes a la fase intercambiable (metales solubles en agua y ácidos débiles), la fase reducible (metales asociados a óxidos de hierro) y la fase oxidable (metales asociados a la materia orgánica y sulfhídrica), dejando un residuo sólido con el contenido inerte del sedimento. Los datos se muestran en el anexo A.3.2.

La distribución en los sedimentos (en porcentaje) obtenida después de aplicar el procedimiento de extracción secuencial BCR, para los metales seleccionados se muestra en la **Figura III.20**.

El Cd se comporta como el metal más móvil con una gran tendencia a pasar a la columna de agua siendo más disponible para la biota acuática, ya que es fácilmente intercambiable y está débilmente asociado. Se observa también en la **Figura III.20**, que el porcentaje de Cd en la fracción intercambiable es mayor en el punto de muestreo H2, correspondiendo a más del 80% de Cd en las dos primeras campañas realizadas.

En el mismo sentido, el Zn también muestra una gran movilidad ya que aparece enlazado principalmente a la fracción más lábil en un rango del 46 al 64%, debido probablemente a la incorporación en esta fase del Zn que precipita incluido en los componentes pobremente cristalizados o amorfos de los sedimentos. Es de destacar que tanto Cd como Zn presentan valores de concentración de metal disuelto mayor que de metal particulado, confirmando tanto en agua como en sedimentos la disponibilidad de estos metales en este ecosistema.

El Cu es el metal que se encuentra en mayor porcentaje en la fracción oxidable (en un rango del 18 al 70%), debido probablemente a la facilidad que tiene el Cu para formar complejos con los compuestos orgánicos. La fracción orgánica relacionada con la fase oxidable se considera menos disponible debido a que está asociada a sustancias húmicas de elevado peso molecular, las cuales solo liberan pequeñas cantidades de metal [MORILLO y col., 2002]. Por lo tanto, Cu tiene menor movilidad que Cd y Zn, como se ha descrito anteriormente para las muestras de agua.



**FIGURA III.20.** Porcentaje de As, Pb, Cd, Cu y Zn en cada fase del esquema de extracción en sedimentos en las estaciones de la Ría de Huelva.

El Pb y el As son los metales que tienen menos movilidad entre los sedimentos y la columna de agua de todos los estudiados; Pb se encuentra en las fases reducible, oxidable y residual. Por su parte As está asociado principalmente a la fase residual, lo cual significa que el As aparece fuertemente incluido en la estructura cristalina de los sedimentos y es muy

difícil que se remobilice a menos que se den condiciones muy extremas. Si se comparan estos resultados con los obtenidos para la especiación de estos dos metales en agua se observa que Pb, tanto en agua como en sedimentos, es muy poco disponible y aparece siempre asociado a las fases inertes, produciéndose una transferencia de Pb de las aguas a los sedimentos por procesos de co-precipitación. Por su parte, As es el metal más disponible en las aguas ya que se presenta mayoritariamente en la fracción disuelta, sin embargo en los sedimentos se encuentra en la fase inerte lo que indica que en el estuario no se produce la removilización de As de los sedimentos a las aguas; su presencia en las mismas probablemente es debida a aportes externos que la contaminan.

La distribución (en porcentaje) de los metales en los sedimentos analizados permanece prácticamente constante y no parecen existir diferencias entre los distintos puntos de muestreo (**Figura III.20**). Estas observaciones han sido comprobadas estadísticamente mediante estudios (paramétricos o no paramétricos, según correspondan) de comparación de las varianzas para detectar la existencia de diferencias significativas tanto entre los puntos de muestreo como diferencias estacionales. Los resultados se recogen en las **Tabla III.27-Tabla III.29**. Las fracciones oxidables de As y Cu así como la fracción residual de Zn son distribuciones que no cumplen la homogeneidad de las varianzas respecto a los puntos de muestreo, por eso se les aplica el análisis de Kruskal-Wallis no paramétrico para estudiar su influencia espacial; en todos los demás casos se cumple la normalidad y homogeneidad de todas las variables aunque algunas tienen que ser transformadas logarítmicamente. Estadísticamente no se han encontrado diferencias significativas estacionales, ni espaciales en la especiación de los metales en los sedimentos de la Ría de Huelva, a excepción del As asociado a la fracción oxidable que presenta diferencias estadísticas entre su porcentaje en los muestreos realizados en otoño con respecto a aquellos llevados a cabo en primavera.

De acuerdo con estos resultados obtenidos la disponibilidad de los metales en los sedimentos sigue el siguiente orden:  $Cd > Zn > Cu > Pb > As$ . Puede observarse que es bastante similar a la que se encontró en las aguas, con la diferencia de que el arsénico pasa a ser poco disponible en los sedimentos. Como se ha comentado anteriormente, esto podría indicar que la presencia mayoritaria de As disuelto no es debida a la movilización desde los sedimentos sino a aportes externos al sistema.

**TABLA III.27.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) entre los puntos de muestreo para la especiación de metales en sedimentos de la Ría de Huelva (grado de libertad 2, 12 casos y **nivel de significación  $p<0,05$** ).

| FRACCIONES             | H     | SIG.  |
|------------------------|-------|-------|
| As % fracción oxidable | 0,615 | 0,735 |
| Cu % fracción oxidable | 0,962 | 0,618 |
| Zn % fracción residual | 4,307 | 0,116 |

**TABLA III.28.** Análisis de la varianza (ANOVA) entre los puntos de muestreo para la especiación de los metales en los sedimentos de la Ría de Huelva (**nivel de significación  $p<0,05$** ).

| FRACCIONES                                | TIPO VI SUMA DE CUADRADOS | GL | MEDIA CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|---|---------------------------|----|------------------|-------|-------|
| As % fracción intercambiable <sup>1</sup> | 0,18                      | 2  | 0,09             | 0,689 | 0,527 |
| As % fracción reducible <sup>1</sup>      | 0,14                      | 2  | 0,07             | 0,439 | 0,658 |
| As % fracción residual                    | 361,34                    | 2  | 180,67           | 0,414 | 0,673 |
| Pb % fracción intercambiable <sup>1</sup> | 0,00                      | 2  | 0,00             | 0,013 | 0,987 |
| Pb % fracción reducible                   | 447,10                    | 2  | 223,55           | 1,467 | 0,281 |
| Pb % fracción oxidable                    | 359,09                    | 2  | 179,55           | 0,559 | 0,590 |
| Pb % fracción residual                    | 200,04                    | 2  | 100,02           | 0,158 | 0,857 |
| Cd % fracción intercambiable              | 862,26                    | 2  | 431,13           | 1,523 | 0,269 |
| Cd % fracción reducible                   | 128,31                    | 2  | 64,16            | 0,766 | 0,493 |
| Cd % fracción oxidable                    | 134,44                    | 2  | 67,22            | 0,372 | 0,700 |
| Cd % fracción residual                    | 150,87                    | 2  | 75,44            | 3,511 | 0,075 |
| Cu % fracción intercambiable              | 16,59                     | 2  | 8,29             | 0,078 | 0,926 |
| Cu % fracción reducible <sup>1</sup>      | 0,35                      | 2  | 0,18             | 0,933 | 0,428 |
| Cu % fracción residual                    | 9,92                      | 2  | 4,96             | 0,153 | 0,860 |
| Zn % fracción intercambiable              | 56,95                     | 2  | 28,48            | 2,177 | 0,169 |
| Zn % fracción reducible                   | 58,55                     | 2  | 29,27            | 1,792 | 0,221 |
| Zn % fracción oxidable                    | 30,49                     | 2  | 15,24            | 1,329 | 0,312 |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

**TABLA III.29.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional de la especiación de los metales en los sedimentos de la Ría de Huelva (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| FRACCIONES                                | TIPO VI SUMA<br>DE<br>CUADRADOS | GL       | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F             | SIG.         |
|---|---------------------------------|----------|---------------------|---------------|--------------|
| As % fracción intercambiable <sup>1</sup> | 0,04                            | 1        | 0,04                | 0,284         | 0,606        |
| As % fracción reducible <sup>1</sup>      | 0,16                            | 1        | 0,16                | 1,136         | 0,312        |
| As % fracción oxidable <sup>1</sup>       | <b>0,87</b>                     | <b>1</b> | <b>0,87</b>         | <b>13,523</b> | <b>0,004</b> |
| As % fracción residual                    | 796,96                          | 1        | 796,96              | 2,281         | 0,162        |
| Pb % fracción intercambiable <sup>1</sup> | 0,02                            | 1        | 0,02                | 0,354         | 0,565        |
| Pb % fracción reducible                   | 333,56                          | 1        | 333,56              | 2,243         | 0,165        |
| Pb % fracción oxidable                    | 264,38                          | 1        | 234,38              | 0,886         | 0,369        |
| Pb % fracción residual                    | 1188,05                         | 1        | 1188,05             | 2,513         | 0,144        |
| Cd % fracción intercambiable              | 444,96                          | 1        | 444,96              | 1,501         | 0,249        |
| Cd % fracción reducible                   | 4,94                            | 1        | 4,94                | 0,056         | 0,817        |
| Cd % fracción oxidable                    | 561,49                          | 1        | 561,49              | 4,676         | 0,056        |
| Cd % fracción residual                    | 0,14                            | 1        | 0,14                | 0,004         | 0,950        |
| Cu % fracción intercambiable              | 268,11                          | 1        | 268,11              | 3,773         | 0,081        |
| Cu % fracción reducible <sup>1</sup>      | 0,29                            | 1        | 0,29                | 1,631         | 0,230        |
| Cu % fracción oxidable <sup>1</sup>       | 0,01                            | 1        | 0,01                | 0,342         | 0,572        |
| Cu % fracción residual                    | 23,16                           | 1        | 23,16               | 0,831         | 0,384        |
| Zn % fracción intercambiable              | 11,68                           | 1        | 11,68               | 0,717         | 0,417        |
| Zn % fracción reducible                   | 17,77                           | 1        | 17,77               | 0,946         | 0,354        |
| Zn % fracción oxidable                    | 22,10                           | 1        | 22,10               | 1,980         | 0,190        |
| Zn % fracción residual <sup>1</sup>       | 0,00                            | 1        | 0,00                | 0,227         | 0,644        |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

A pesar de observarse como la distribución de los metales entre las distintas fases del esquema de extracción no está sujeta a las variaciones estacionales, y que tampoco presenta importantes diferencias entre los puntos de muestreo, resulta interesante comprobar si los parámetros físico-químicos estudiados tienen alguna influencia sobre la misma. Por ello, se han calculado los coeficientes y grado de correlación lineal entre los parámetros físico-químicos y las fracciones metálicas evaluadas en los sedimentos.

**TABLA III.30.** Coeficientes de la correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de As en los sedimentos de la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción intercambiable <sup>1</sup> | % fracción reducible | % fracción oxidable <sup>1</sup> | % fracción residual |
|--------------------|--|----------------------|----------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | -0,41                                  | -0,34                | 0,22                             | 0,21                |
| pH                 | 0,40                                   | 0,52                 | 0,13                             | -0,36               |
| O <sub>2</sub>     | -0,36                                  | -0,20                | -0,30                            | 0,11                |
| Salinidad          | 0,20                                   | 0,51                 | <b>0,67</b>                      | -0,42               |
| Sol. Susp.         | -0,56                                  | -0,32                | -0,18                            | 0,26                |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,53                                   | 0,31                 | <b>0,58</b>                      | -0,45               |
| COD                | <b>-0,75</b>                           | <b>-0,79</b>         | -0,56                            | <b>0,72</b>         |
| % M.O. sedimento   | 0,30                                   | -0,06                | 0,17                             | -0,06               |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

En la especiación de As se encuentran tres parámetros que correlacionan en mayor medida: la salinidad y el porcentaje de materia orgánica en los sólidos en suspensión, cuyo aumento está correlacionado con un aumento del As en la fase oxidable y el carbono orgánico disuelto, el cual está relacionado positivamente con la fracción residual y negativamente con el As en las fases intercambiable y reducible.

**TABLA III.31.** Coeficientes de la correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Pb en los sedimentos de la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción intercambiable <sup>1</sup> | % fracción reducible | % fracción oxidable | % fracción residual |
|--------------------|--|----------------------|---------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | 0,15                                   | 0,09                 | -0,30               | 0,16                |
| pH                 | -0,05                                  | 0,27                 | 0,54                | -0,55               |
| O <sub>2</sub>     | -0,26                                  | -0,43                | -0,30               | 0,48                |
| Salinidad          | 0,09                                   | <b>0,66</b>          | 0,42                | <b>-0,69</b>        |
| Sol. Susp.         | 0,06                                   | -0,39                | -0,57               | <b>-0,65</b>        |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,29                                   | 0,51                 | 0,08                | -0,41               |
| COD                | 0,20                                   | -0,42                | <b>-0,87</b>        | <b>0,87</b>         |
| % M.O. sedimento   | 0,02                                   | -0,03                | -0,02               | 0,03                |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

Los parámetros que correlacionan con la especiación de Pb en los sedimentos son la salinidad, cuyo aumento se asocia con un aumento en la fracción reducible y una disminución en la fracción residual, el porcentaje de la materia orgánica en los sólidos en suspensión, que correlaciona de forma negativa con la fracción residual, y el carbono orgánico disuelto, que presenta unos coeficientes de correlación muy elevados con el contenido de Pb asociado a las fracciones oxidable y residual de forma opuesta, de modo que un aumento en el contenido de carbono orgánico disuelto provoca una disminución de la fracción oxidable y un aumento del Pb asociado a la fracción residual.

**TABLA III.32.** Coeficientes de la correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cd en los sedimentos de la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción intercambiable | % fracción reducible | % fracción oxidable | % fracción residual |
|--------------------|---------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | 0,34                      | 0,07                 | -0,37               | -0,36               |
| pH                 | -0,32                     | 0,10                 | 0,27                | 0,27                |
| O <sub>2</sub>     | <b>-0,73</b>              | <b>0,59</b>          | 0,46                | 0,32                |
| Salinidad          | 0,41                      | 0,00                 | <b>-0,58</b>        | 0,02                |
| Sol. Susp.         | -0,10                     | 0,20                 | -0,06               | 0,13                |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,50                      | -0,30                | -0,30               | -0,41               |
| COD                | 0,01                      | 0,01                 | 0,05                | -0,17               |
| % M.O. sedimento   | 0,54                      | <b>-0,65</b>         | -0,12               | -0,39               |

La salinidad, el oxígeno disuelto y el contenido de materia orgánica de los sedimentos son los parámetros que probablemente regulan la especiación de Cd en los sedimentos. El contenido en oxígeno disuelto de las aguas correlaciona positivamente con Cd asociado a la fracción reducible y negativamente con el porcentaje de Cd asociado a la fracción intercambiable; en este último caso el coeficiente de correlación es elevado, y además hay que recordar que esta fracción es mayoritaria en la distribución de Cd en los sedimentos. La fracción reducible también correlaciona de manera negativa con el contenido de materia orgánica en los sedimentos. La salinidad está correlacionada de manera negativa con Cd asociado a la fracción oxidable.

En el caso del Cu no se han hallado correlaciones entre los parámetros estudiados y su especiación en los sedimentos al igual que ocurre con su especiación en las aguas, para las que apenas se encontraron correlaciones significativas con los parámetros físico-químicos y generales. Esto indica que la distribución geoquímica de Cu en el estuario y por tanto su disponibilidad no está sujeta a cambios físico-químicos en el sistema.



**TABLA III.33.** Coeficientes de la correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cu en los sedimentos de la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción intercambiable | % fracción reducible | % fracción oxidable | % fracción residual |
|--------------------|---------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | 0,40                      | -0,13                | 0,00                | -0,47               |
| pH                 | -0,00                     | 0,15                 | -0,06               | -0,11               |
| O <sub>2</sub>     | -0,15                     | -0,07                | 0,12                | 0,02                |
| Salinidad          | 0,57                      | 0,42                 | -0,49               | -0,15               |
| Sol. Susp.         | -0,13                     | 0,19                 | -0,15               | 0,40                |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,35                      | -0,03                | -0,01               | -0,52               |
| COD                | -0,24                     | -0,17                | 0,16                | 0,22                |
| % M.O. sedimento   | -0,24                     | -0,24                | 0,23                | 0,13                |

**TABLA III.34.** Coeficientes de la correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Zn en los sedimentos de la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción intercambiable | % fracción reducible | % fracción oxidable | % fracción residual |
|--------------------|---------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | 0,44                      | 0,01                 | -0,19               | -0,23               |
| pH                 | -0,24                     | 0,05                 | 0,32                | -0,07               |
| O <sub>2</sub>     | -0,29                     | -0,56                | 0,10                | <b>0,65</b>         |
| Salinidad          | 0,39                      | 0,49                 | -0,38               | -0,46               |
| Sol. Susp.         | 0,40                      | 0,02                 | -0,41               | -0,05               |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,24                      | 0,14                 | 0,19                | -0,44               |
| COD                | 0,18                      | -0,11                | -0,18               | 0,08                |
| % M.O. sedimento   | 0,04                      | 0,17                 | 0,04                | -0,20               |

Por último, en el caso del Zn su distribución en los sedimentos solo correlaciona con el contenido de oxígeno disuelto de las aguas. Este parámetro esta correlacionado positivamente con la proporción de la fracción residual de Zn en los sedimentos.

### III.2.3. CONTENIDO METÁLICO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

---

En el presente capítulo se recogen los resultados y conclusiones obtenidas del estudio sobre el contenido y distribución de metales pesados en diferentes tejidos de lenguados (*Solea senegalensis*) y doradas (*Sparus aurata*), capturados en la Ría de Huelva. El interés de estas especies se debe a que resultan especialmente representativas para este estudio; así, el lenguado es un pez cuyo hábitat está predominantemente asociado al fondo marino, es consumido habitualmente por la población local y su movilidad es más limitada que el de otras especies; por el contrario la dorada, con similar interés comercial, tiene su hábitat más extendido a la masa del agua. Por lo tanto con ambas especies se estudian dos formas de hábitat con diferente influencia del medio abiótico que lo rodea. Los tejidos que se estudian en estas especies son branquias, hígado y músculo, muy utilizados en estudios de concentración y evaluación de metales en peces. La branquia es un órgano osmoregulatorio de los peces que está en contacto directo con el medio acuático, el hígado es el órgano donde se producen la mayor parte de los procesos metabólicos y el que juega el papel más importante en la detoxificación, y por último el músculo es la parte de los peces que principalmente se consume y por tanto es importante en la incorporación de los metales en la cadena trófica.

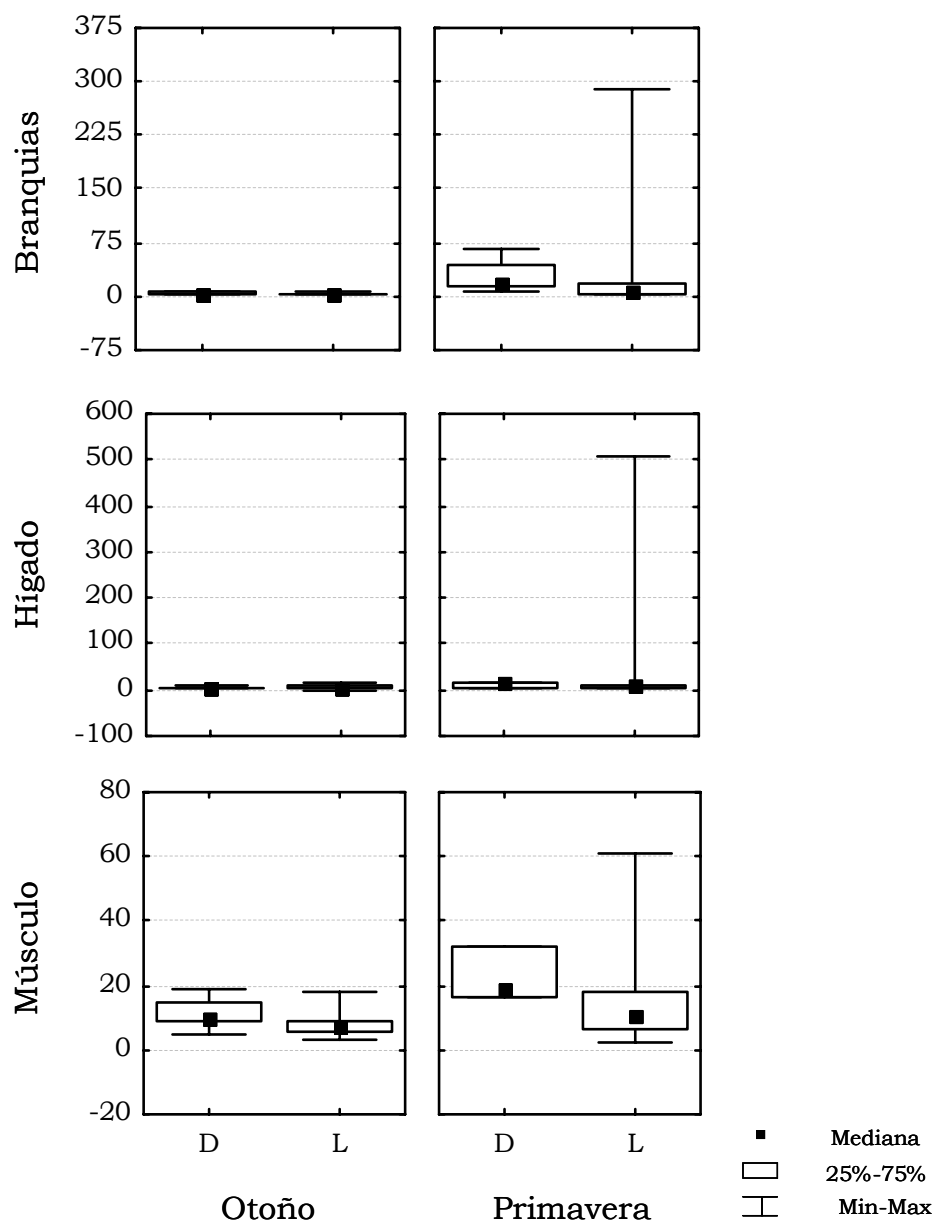
El contenido metálico de las muestras analizadas se ha expresado en mg de metal por Kg de tejido seco (anexo A.3.3). En la **Tabla III.35** se han incluido los valores medios obtenidos para las dos especies estudiadas, diferenciando los tejidos de branquia, hígado y músculo. Las concentraciones metálicas mayores se han observado para cinc y cobre, que son los metales con mayores niveles de concentración tanto en agua como en sedimentos, sobre todo en los tejidos de hígado. Cabe destacar la importante disponibilidad del Zn detectada en agua y sedimentos en los estudios anteriores. El arsénico también es un metal acumulado en los tejidos biológicos de forma destacada, sobre todo en branquia y en hígado. En este

caso, se ha evaluado como un metal más disponible en la masa de agua que en el sedimento. Comparando las especies, las doradas tienen mayores valores medios de Zn, Cd y Cu en hígado y los lenguados mayores valores medios de Pb y As en las branquias. Si comparamos los valores metálicos medios por tejidos, las branquias y músculo presentan el siguiente orden de acumulación:  $Zn > As > Cu > Pb > Cd$ , mientras que en hígado se observa otro orden de acumulación distinto:  $Cu > Zn > As > Cd > Pb$  siendo este orden el mismo para ambas especies.

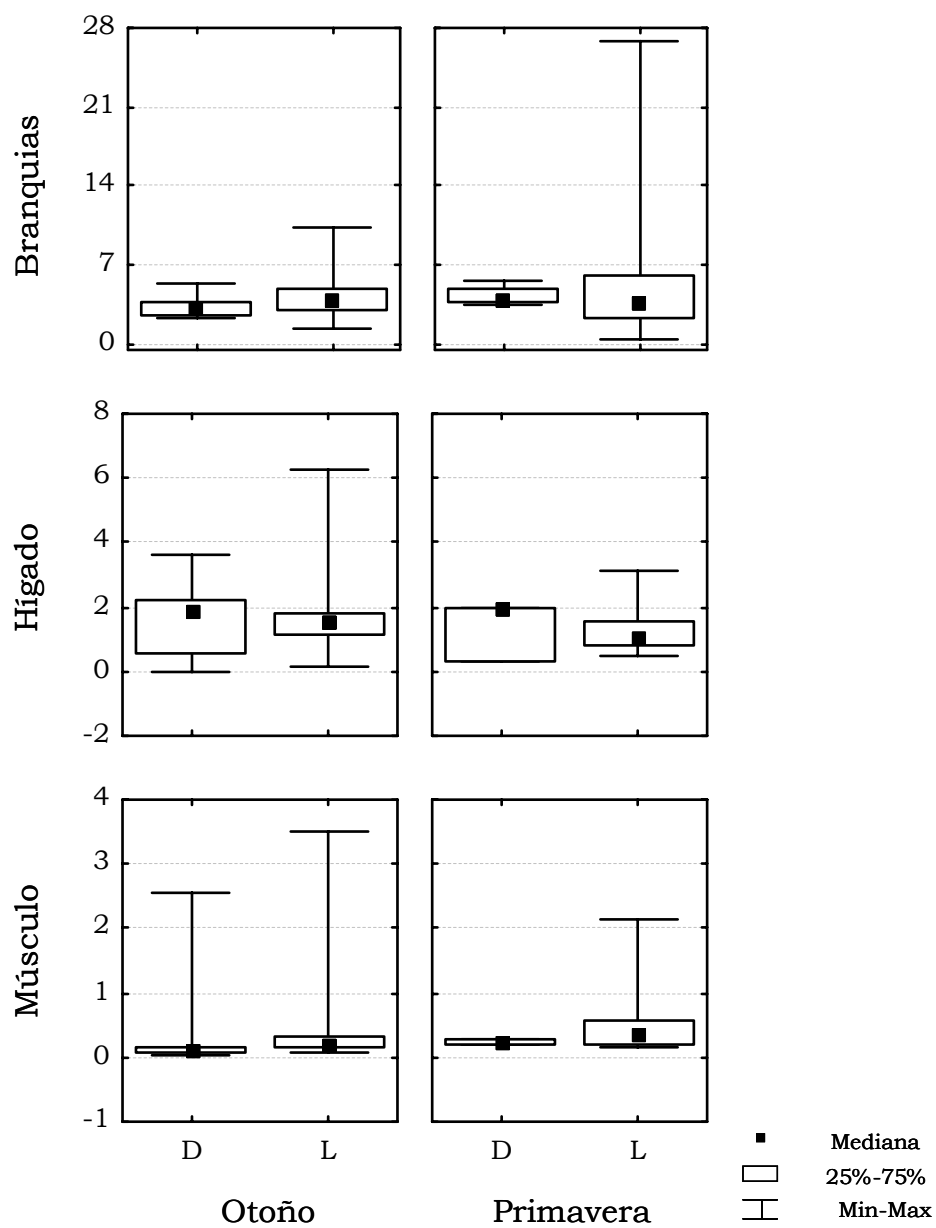
**TABLA III.35.** Concentraciones metálicas medias en tejidos de *Sparus aurata* (dorada) y *Solea senegalensis* (lenguado) de la Ría de Huelva ( $mg\ Kg^{-1}$  peso seco).

| PEZ      | TEJIDO   | As    | Pb   | Cd   | Cu     | Zn     |
|----------|----------|-------|------|------|--------|--------|
| Dorada   | Branquia | 11,17 | 3,68 | 0,10 | 9,96   | 97,52  |
|          | Hígado   | 7,13  | 1,58 | 4,24 | 394,26 | 230,45 |
|          | Músculo  | 13,58 | 0,32 | 0,01 | 1,87   | 44,86  |
| Lenguado | Branquia | 13,82 | 4,52 | 0,56 | 11,90  | 73,70  |
|          | Hígado   | 14,56 | 1,46 | 1,82 | 433,45 | 88,20  |
|          | Músculo  | 10,61 | 0,40 | 0,01 | 1,41   | 23,68  |

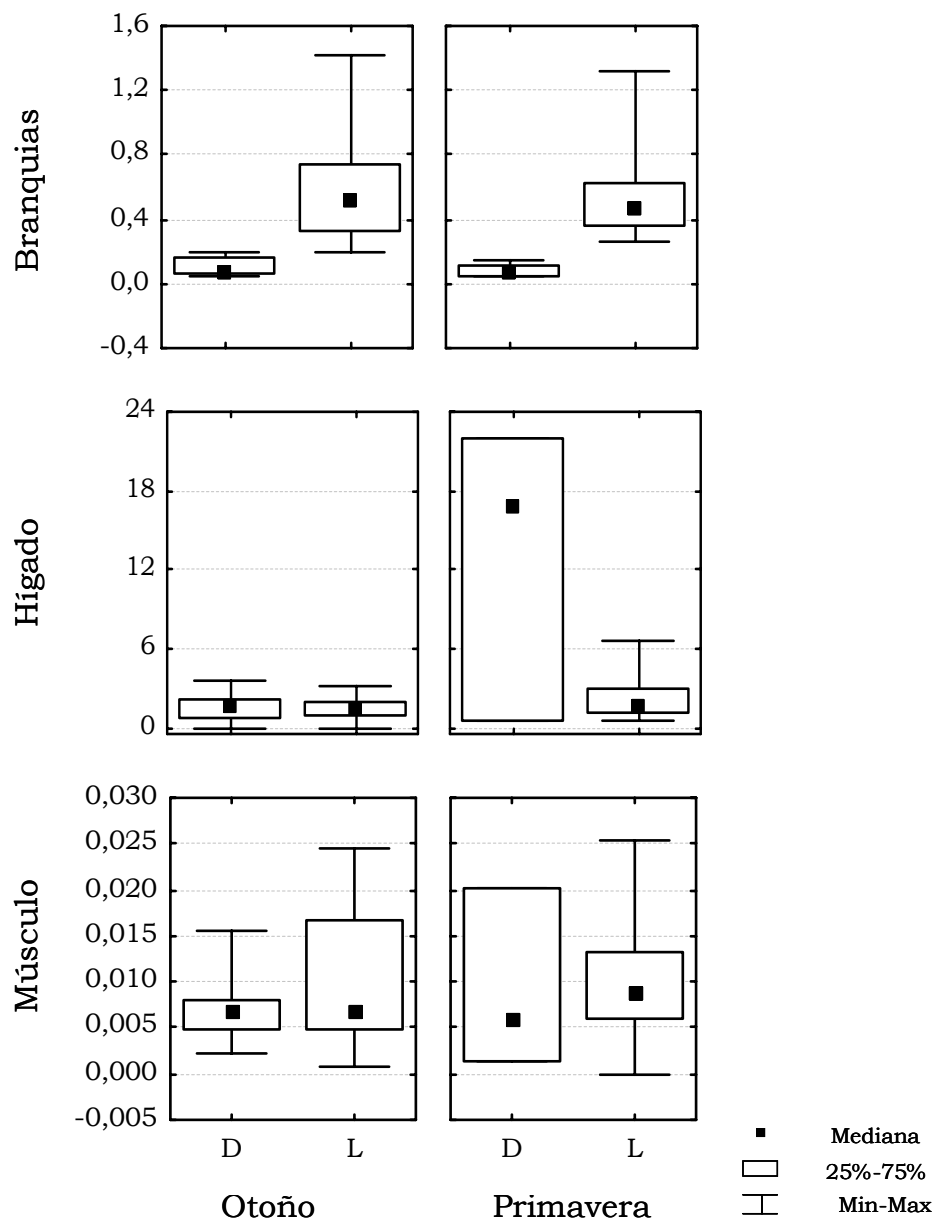
Los resultados obtenidos se han representado gráficamente como caja de Box-Whisker, en las cuales se muestra la tendencia central del contenido metálico que viene representada por la mediana, mientras que la dispersión de los resultados (variabilidad) está representada por los cuartiles (25% y 75%) y el valor mínimo y máximo de la variable. Se han realizado dos tipos de gráficas, una primero en la que se representan los valores metálicos por pez y tejidos agrupados según sean los muestreos de otoño o primavera (**Figura III.21 a Figura III.25**); y en el segundo tipo se han representado los valores metálicos comparando los distintos puntos de muestreo (**Figura III.26 a Figura III.30**).



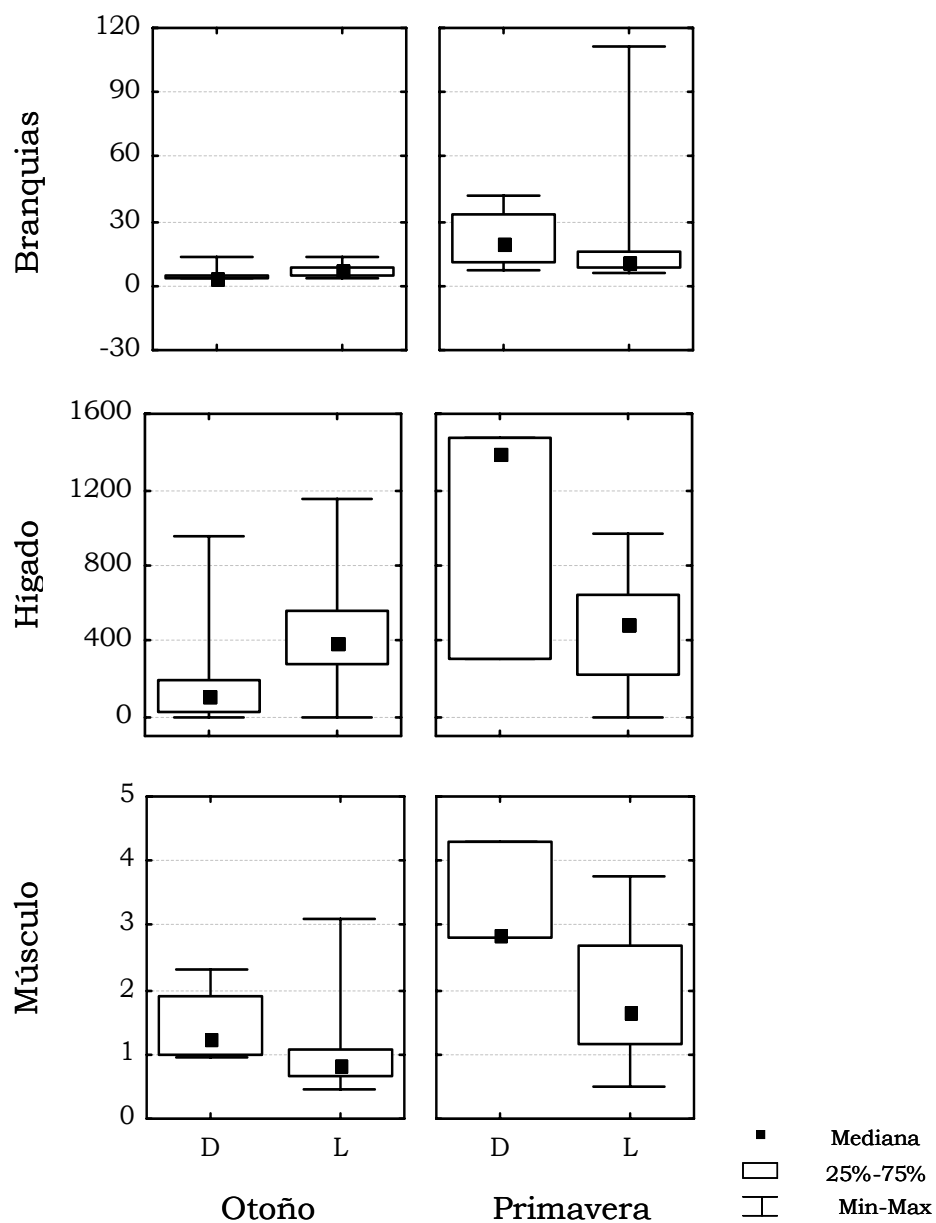
**FIGURA III.21.** Caja de Box-Whisker de As (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para las estaciones de otoño y primavera.



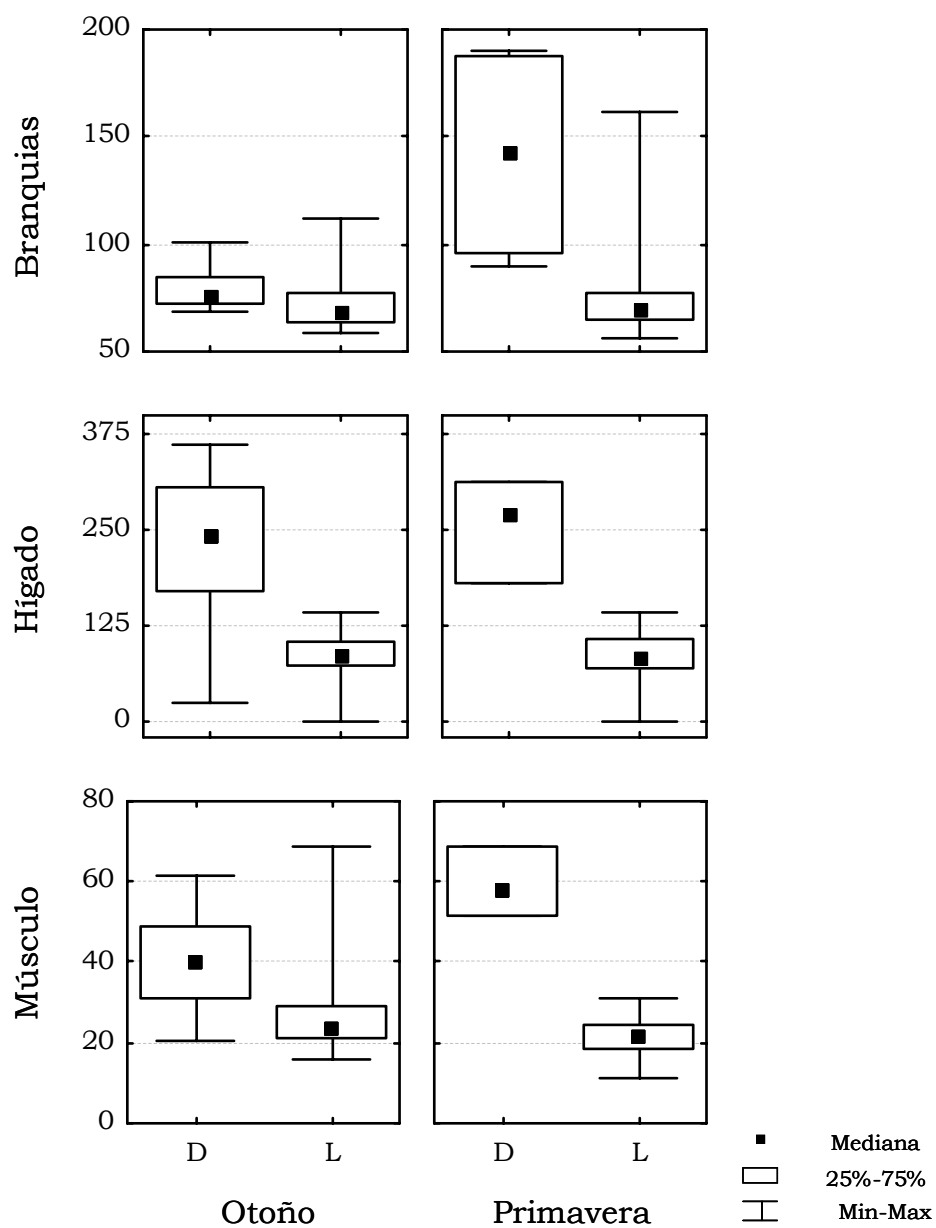
**FIGURA III.22.** Caja de Box-Whisker de Pb (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para las estaciones de otoño y primavera.



**FIGURA III.23.** Caja de Box-Whisker de Cd (mg/kg) en doradas (D) y linguados (L) de la Ría de Huelva, para las estaciones de otoño y primavera.

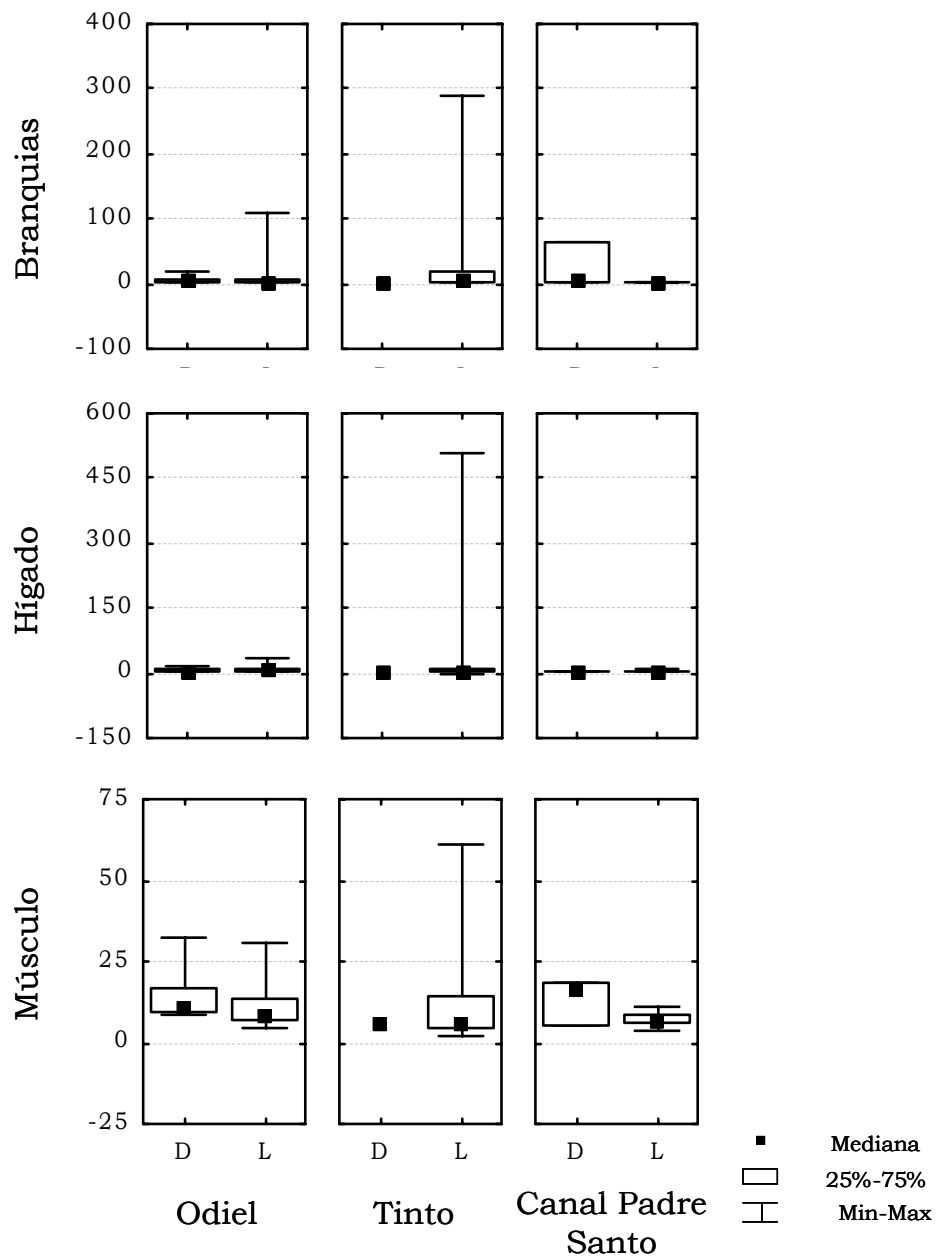


**FIGURA III.24.** Caja de Box-Whisker de Cu (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para las estaciones de otoño y primavera.

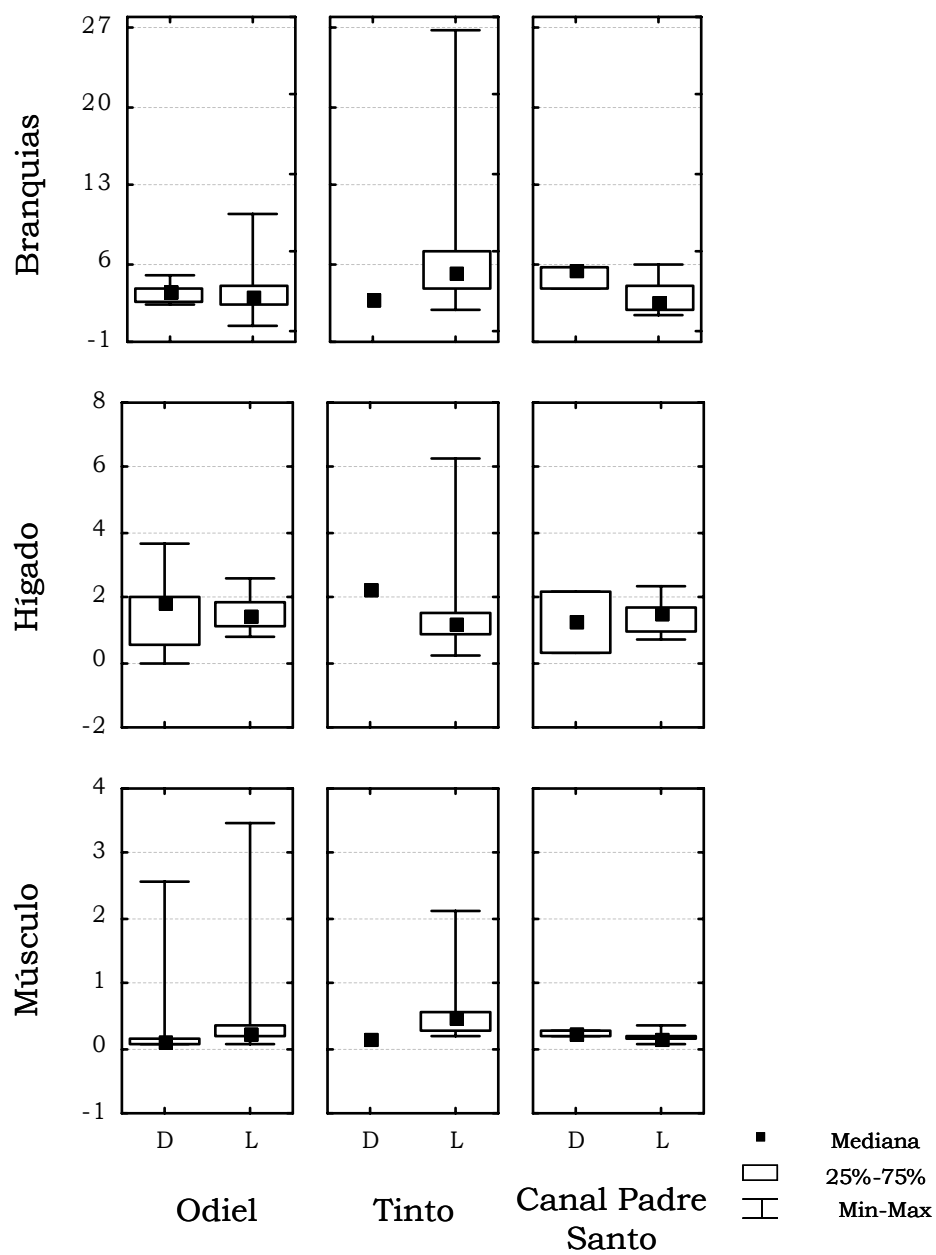


**FIGURA III.25.** Caja de Box-Whisker de Zn (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para las estaciones de otoño y primavera.

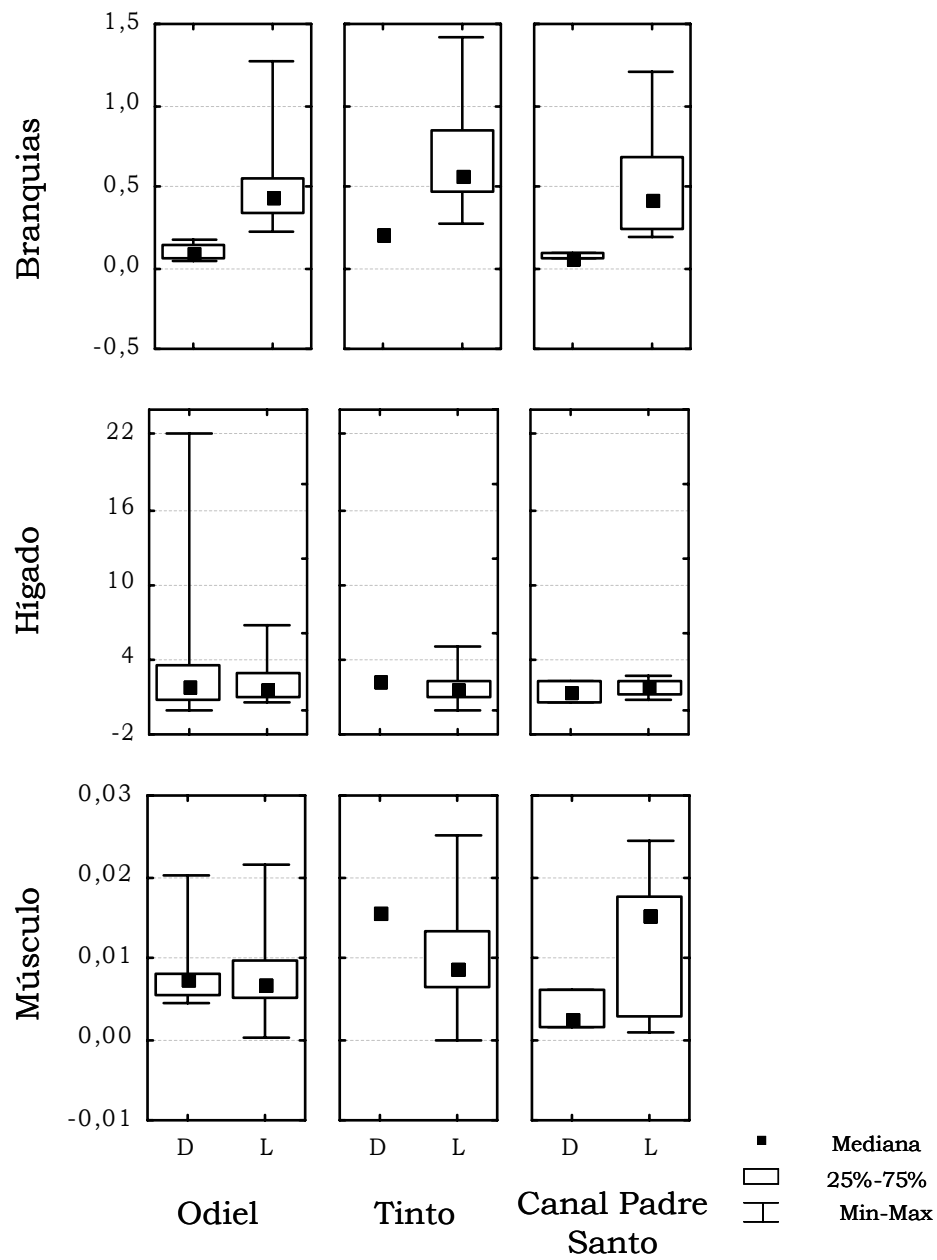




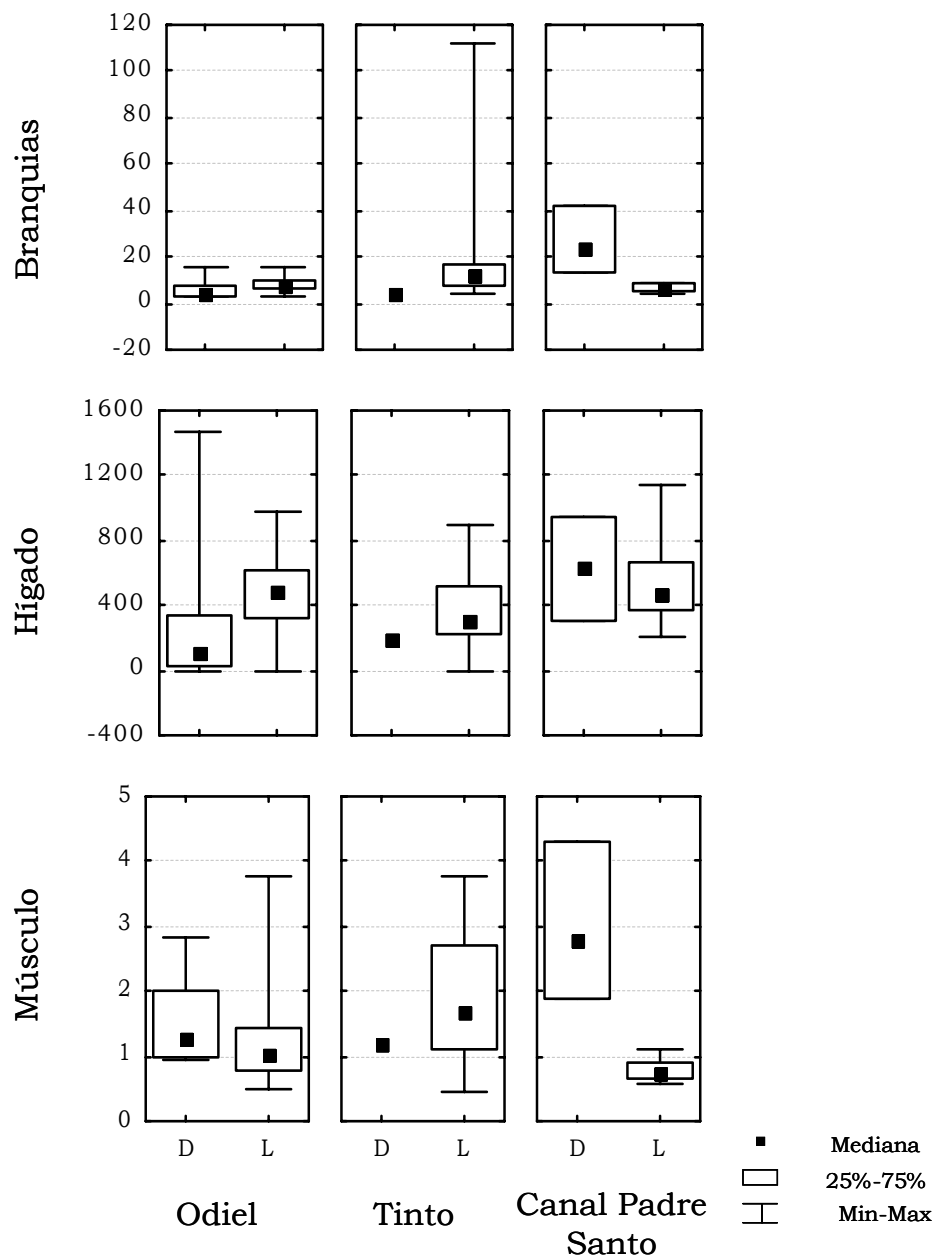
**FIGURA III.26.** Caja de Box-Whisker de As (mg/Kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para los puntos de muestreo Odiel, Tinto y Canal de Padre Sto.



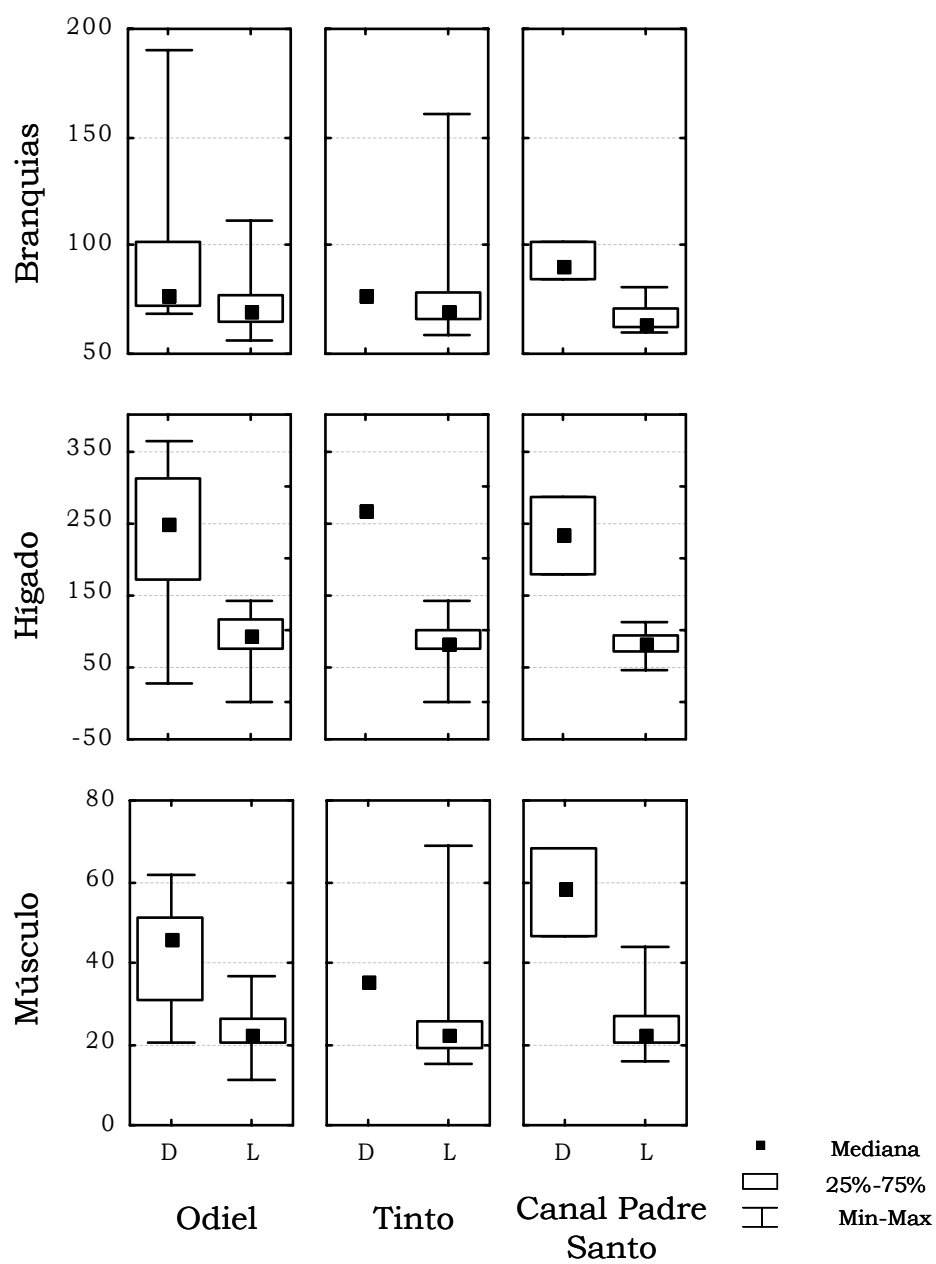
**FIGURA III.27.** Caja de Box-Whisker de Pb (mg/ Kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para los puntos de muestreo Odiel, Tinto y Canal de Padre Sto.



**FIGURA III.28.** Caja de Box-Whisker de Cd (mg/Kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para los puntos de muestreo Odiel, Tinto y Canal de Padre Sto.



**FIGURA III.29.** Caja de Box-Whisker de Cu (mg/Kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para los puntos de muestreo Odiel, Tinto y Canal de Padre Sto.



**FIGURA III.30.** Caja de Box-Whisker de Zn (mg/Kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Ría de Huelva, para los puntos de muestreo Odiel, Tinto y Canal de Padre Sto.

En las Figura **III.21** y **III.26** se observa como el As se acumula de manera diferente en los tejidos estudiados, observándose los valores más altos en branquias e hígado de lenguados. Hay que indicar, que aunque los valores más altos se han observado en lenguados capturados en el punto de muestreo del Río Tinto, la tendencia central de los niveles de As, que viene dada por la mediana y los cuartiles 25 y 75%, suele ser mayor en doradas que en lenguados.

Para Pb se observan claras diferencias entre los tejidos, los cuales siguen el siguiente orden de acumulación: branquias > hígado > músculo. Los valores más altos de Pb se observan siempre en lenguados para todos los tejidos estudiados, aunque la tendencia central de los niveles de Pb sea similar en ambas especies. Hay que indicar que gráficamente no existen diferencias apreciables en la acumulación de Pb entre los muestreos de otoño y primavera ni entre los distintos puntos de muestreo.

Al igual que se ha descrito para Pb, se observan claras diferencias en la acumulación de Cd en los tejidos analizados, los cuales se pueden ordenar según sus niveles de Cd como sigue: hígado > branquias > músculo. Hay que indicar que los niveles de Cd en los tejidos de hígado de las doradas son mucho mayores en los peces capturados en primavera que en aquellos capturados en otoño. Así mismo, se observan diferencias entre las especies en los niveles Cd en branquias, siendo éstos mayores en lenguados que en doradas, mientras que para los otros tejidos se observa como las tendencias centrales de los niveles de Cd son similares para ambas especies. Por último, hay que señalar que no se observan diferencias gráficas en los niveles de Cd en peces entre los puntos de muestreo.

Para Cu también son evidentes sus diferentes niveles en los tejidos (hígado > branquias > músculo). Los niveles de Cu en doradas y lenguados son mayores en primavera. Ambas especies difieren en la acumulación de Cu en los distintos tejidos, para branquias y músculo la acumulación es mayor en doradas, mientras que para hígado depende de la estación, en otoño la acumulación en hígado es mayor en lenguado pero en primavera es mayor en las doradas. Así mismo, no se observan diferencias gráficas en los niveles de Cd en peces entre los puntos de muestreo.

Como se observa en las Figura III.25 y III.30 la acumulación de Zn en los tejidos sigue el siguiente orden: hígado > branquias > músculo. Este metal

presenta mayores niveles en los tejidos de músculo e hígado de doradas que de lenguados. Hay que decir, que en las figuras no se aprecian diferencias en los niveles de Zn en peces entre estaciones ni entre puntos de muestreo.

A partir de los resultados obtenidos se ha analizado estadísticamente si existen diferencias entre la acumulación metálica entre las dos especies, así como si existen diferencias entre los distintos tejidos seleccionados; también se ha estudiado, tal y como se ha realizado con las muestras de agua y sedimento, si existen tendencias estacionales o espaciales en la acumulación metálica que sufren las especies. Las concentraciones de los metales en los peces son distribuciones no normales (anexo A.4), por lo cual se emplean los análisis estadísticos no paramétricos para realizar estos análisis.

Inicialmente se estudia si existen diferencias en la acumulación metálica entre las especies, de modo que, para aquellos metales en los que no se encuentran diferencias entre las especies los estudios realizados a continuación se hacen de forma conjunta; sin embargo aquellos metales que presentan diferencias en su acumulación entre las especies requieren de estudios individualizados para cada especie, ya que no se podría asumir que las conclusiones de estudios realizados de manera conjunta sean igualmente válidas para las dos especies. Por tanto se ha realizado el análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrico) para los datos de acumulación metálica en las dos especies. Los resultados de este análisis se muestran en la **Tabla III.36**.

**TABLA III.36.** *Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) de la diferencia entre especies (dorada y lenguado) en la acumulación metálica en la Ría de Huelva (grado de libertad 1, 270 casos y nivel de significación  $p < 0,05$ ).*

| METAL | H             | SIG.         |
|-------|---------------|--------------|
| As    | 2,002         | 0,157        |
| Pb    | 0,137         | 0,711        |
| Cd    | <b>3,907</b>  | <b>0,048</b> |
| Cu    | 0,346         | 0,557        |
| Zn    | <b>11,985</b> | <b>0,001</b> |

En esta tabla se observa que para As, Pb y Cu no existen diferencias en la acumulación que de ellos sufren las dos especies de peces, sin embargo en el caso de Cd y Zn si se han encontrado diferencias estadísticas significativas

entre su acumulación en doradas y lenguados. Este dato estadístico corrobora los resultados presentados en la **Tabla III.35**, en donde se ve para estos metales mayores diferencias entre los valores medios en doradas y lenguados, siendo esta diferencia apreciable en el caso de los valores medios de estos metales en hígado.

Para aquellos metales que no presentan diferencias entre las especies estudiadas, se procede a estudiar si esta acumulación tiene una influencia estacional, espacial o si existen diferencias en la acumulación entre tejidos. El resultado de este estudio se resume en la **Tabla III.37**.

**TABLA III.37.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) de la diferencia estacional, espacial y entre tejidos en la acumulación de As, Pb y Cu en peces de la Ría de Huelva (grado de libertad de 1, 2 y 2 respectivamente, 270 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| METAL | Influencia estacional |              | Influencia espacial |              | Influencia tejidos |          |
|-------|-----------------------|--------------|---------------------|--------------|--------------------|----------|
|       | H                     | SIG.         | H                   | SIG.         | H                  | SIG.     |
| As    | <b>37,283</b>         | <b>0</b>     | <b>7,187</b>        | <b>0,028</b> | <b>37,719</b>      | <b>0</b> |
| Pb    | 0,034                 | 0,853        | 3,888               | 0,143        | <b>201,720</b>     | <b>0</b> |
| Cu    | <b>5,542</b>          | <b>0,019</b> | 0,732               | 0,694        | <b>215,249</b>     | <b>0</b> |

La acumulación de As en los tejidos presenta tendencia estacional, el contenido de As encontrado en los tejidos de los peces es mayor en los muestreos de primavera en los que se observa también una mayor dispersión de los datos. Así mismo, existe influencia espacial en la acumulación de As en los tejidos de los peces. En el caso de Cu también existe influencia estacional en su acumulación en los peces, al igual que ocurre con As, sus niveles encontrados en los peces son mayores para aquellos capturados en primavera. Para el Pb no se ha encontrado ninguna pauta de acumulación espacio-temporal en las muestras analizadas. Sin embargo, para los tres metales se han encontrado diferencias significativas en la acumulación de los mismos en los distintos tejidos estudiados.

Con objeto de encontrar que puntos de muestreo afectan a la acumulación de As de forma diferente se ha realizado un análisis de comparación múltiple de los niveles metálicos encontrados (**Tabla III.38**). Este estudio muestra que las diferencias significativas se establecen entre los puntos de muestreo de Odiel y del Canal del Padre Santo.



**TABLA III.38.** Análisis de Comparación Múltiple de medias de dos colas para la acumulación de As con respecto a los puntos de muestreo (*nivel de significación  $p<0,05$* ).

| PUNTOS DE MUESTREO | p            |       |
|--------------------|--------------|-------|
|                    | H1           | H2    |
| H2                 | 0,522        |       |
| H3                 | <b>0,027</b> | 0,435 |

Como se ha indicado anteriormente, para los tres metales existen diferencias significativas en su contenido entre los distintos tejidos estudiados. En este caso se ha estudiado entre cuales de los tejidos se establecen estas diferencias, por ese motivo se emplea también en este caso un análisis de comparación múltiple (**Tabla III.39**). Este estadístico muestra que para estos tres metales existen diferencias significativas en su acumulación entre todos los tejidos.

**TABLA III.39.** Análisis de Comparación Múltiple de medias de dos colas para la acumulación de As, Pb y Cu con respecto a los tejidos de branquias, hígado y músculo (*nivel de significación  $p<0,05$* ).

| METAL | TEJIDO  | p             |               |
|-------|---------|---------------|---------------|
|       |         | Branquias     | Hígado        |
| As    | Hígado  | <b>3,601</b>  |               |
|       | Músculo | <b>6,103</b>  | <b>2,453</b>  |
| Pb    | Hígado  | <b>7,132</b>  |               |
|       | Músculo | <b>14,202</b> | <b>6,951</b>  |
| Cu    | Hígado  | <b>6,960</b>  |               |
|       | Músculo | <b>7,824</b>  | <b>14,660</b> |

En la **Tabla III.40** se presentan los valores de concentración medio y la desviación estándar de As, Pb y Cu en los tejidos de los peces de Huelva. Hay que destacar el caso del arsénico que a pesar de presentar unos valores medios en los tejidos del mismo orden de magnitud se diferencia en la dispersión de los datos con una mayor desviación para branquias e hígado. A partir de estos resultados se puede ordenar la acumulación de As, Pb y Cu en los tejidos como sigue: para As y Cu es hígado > branquias > músculo y en el caso de Pb el orden es branquias > hígado > músculo.

**TABLA III.40.** Media y desviación estándar de As, Pb y Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) en peces de la Ría de Huelva.

| TEJIDOS   | As    |       | Pb    |      | Cu     |        |
|-----------|-------|-------|-------|------|--------|--------|
|           | MEDIA | D.E.  | MEDIA | D.E. | MEDIA  | D.E.   |
| Branquias | 13,42 | 35,75 | 4,39  | 3,47 | 11,60  | 14,78  |
| Hígado    | 13,47 | 53,55 | 1,48  | 0,84 | 427,66 | 292,98 |
| Músculo   | 11,03 | 8,59  | 0,39  | 0,50 | 1,48   | 0,92   |

En el caso del Zn y Cd, metales cuya acumulación depende de la especie, se ha estudiado la influencia estacional, espacial o de los tejidos de modo independiente para cada especie, dorada y lenguado (**Tabla III.41**).

**TABLA III.41.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) de la diferencia estacional, espacial y entre tejidos en la acumulación de Cd y Zn en doradas y lenguados de la Ría de Huelva (grado de libertad de 1, 2 y 2 respectivamente, 40 y 230 casos (doradas y lenguados) y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| PEZ | METAL | Influencia estacional |       | Influencia espacial |       | Influencia tejidos |          |
|-----|-------|-----------------------|-------|---------------------|-------|--------------------|----------|
|     |       | H                     | SIG.  | H                   | SIG.  | H                  | SIG.     |
| D   | Cd    | 0,165                 | 0,685 | 1,632               | 0,442 | <b>23,489</b>      | <b>0</b> |
|     | Zn    | 2,155                 | 0,142 | 0,115               | 0,944 | <b>25,098</b>      | <b>0</b> |
| L   | Cd    | 0,067                 | 0,796 | 0,292               | 0,864 | <b>186,267</b>     | <b>0</b> |
|     | Zn    | 1,135                 | 0,287 | 0,879               | 0,644 | <b>150,642</b>     | <b>0</b> |

Como se observa en la **Tabla III.41**, el contenido de Zn y Cd en peces no presentan ni influencia estacional ni espacial para las especies estudiadas. Si se observan diferencias significativas en la acumulación de Zn y Cd entre tejidos. A continuación se ha estudiado entre cuales de los tejidos, tanto en doradas como lenguados se establecen estas diferencias significativas, aplicando el análisis de comparación múltiple entre tejidos (**Tabla III.42**). En doradas se han observado diferencias estadísticas para la acumulación de Cd y Zn entre los tejidos de branquias y músculo, y entre hígado y músculo. Sin embargo en los lenguados se han encontrado diferencias entre todos los tejidos.

En la **Tabla III.43** se presentan los valores medios y la desviación estándar de Cd y Zn para cada pez y tejido. Estos datos muestran como para Cd y Zn se establece el mismo orden de acumulación en los tejidos tanto en doradas como en lenguados, el cual es hígado > branquias > músculo.

**TABLA III.42.** Análisis de Comparación Múltiple de Medias de dos colas para la acumulación de Cd y Zn con respecto a los tejidos de branquias, hígado y músculo en doradas y lenguado (*nivel de significación  $p < 0,05$* ).

| PEZ | METAL | TEJIDO  | p            |               |
|-----|-------|---------|--------------|---------------|
|     |       |         | Branquias    | Hígado        |
| D   | Cd    | Hígado  | 1,751        |               |
|     |       | Músculo | <b>3,118</b> | <b>4,781</b>  |
|     | Zn    | Hígado  | 1,755        |               |
|     |       | Músculo | <b>3,268</b> | <b>4,932</b>  |
| L   | Cd    | Hígado  | <b>6,100</b> |               |
|     |       | Músculo | <b>7,608</b> | <b>13,615</b> |
|     | Zn    | Hígado  | <b>3,139</b> |               |
|     |       | Músculo | <b>8,771</b> | <b>11,814</b> |

**TABLA III.43.** Media y desviación estándar de Cd y Zn ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) en los tejidos de doradas y lenguados de la Ría de Huelva.

| PEZ | TEJIDO    | Cd    |      | Zn     |      |
|-----|-----------|-------|------|--------|------|
|     |           | MEDIA | D.E. | MEDIA  | D.E. |
| D   | Branquias | 0,10  | 0,05 | 97,52  | 90   |
|     | Hígado    | 4,24  | 6,92 | 230,45 | 99   |
|     | Músculo   | 0,01  | 0,01 | 44,9   | 14,7 |
| L   | Branquias | 0,56  | 0,28 | 73,70  | 16,8 |
|     | Hígado    | 1,82  | 1,09 | 88,20  | 29   |
|     | Músculo   | 0,01  | 0,01 | 23,7   | 7,6  |

Con objeto de detectar alguna relación entre los metales ya sea por metabolismo semejante o por una incorporación común, se ha realizado el estudio de la correlación del contenido metálico acumulado en los peces. Dada la cantidad de factores que se manejan en el estudio de bioacumulación, se ha decidido realizar estos estudios de correlación de manera general para cada especie estudiada y de un modo más específico para cada tejido analizado. En la **Tabla III.44** y la **Tabla III.45** se muestran los coeficientes de correlación

encontrados entre el contenido metálico en doradas y lenguados, respectivamente. En ambos casos se establecen correlaciones positivas significativas entre los niveles de Cd, Cu y Zn, siendo la correlación más importante la que se establece entre Cu y Zn que eran los metales encontrados en agua y sedimento con mayor concentración. Así mismo, se observan correlaciones de Pb con Cd, Cu y Zn, aunque los coeficientes de correlación en estos casos son menores que los descritos anteriormente. El arsénico es un metal que prácticamente no presenta correlaciones con el resto de los metales, y cuando está correlacionado, como es con Pb en los lenguados, lo está de manera negativa y con poca significación.

**TABLA III.44.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en doradas de la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |       |             |             |             |    |
|----|-------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1     |             |             |             |    |
| Pb | -0,23 | 1           |             |             |    |
| Cd | -0,29 | <b>0,56</b> | 1           |             |    |
| Cu | -0,18 | <b>0,43</b> | <b>0,72</b> | 1           |    |
| Zn | -0,15 | <b>0,54</b> | <b>0,78</b> | <b>0,92</b> | 1  |
|    | As    | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

**TABLA III.45.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en lenguados de la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |              |             |             |             |    |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1            |             |             |             |    |
| Pb | <b>-0,51</b> | 1           |             |             |    |
| Cd | -0,22        | <b>0,55</b> | 1           |             |    |
| Cu | -0,31        | <b>0,57</b> | <b>0,82</b> | 1           |    |
| Zn | -0,29        | <b>0,60</b> | <b>0,76</b> | <b>0,94</b> | 1  |
|    | As           | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

Como se puede observar en la **Tabla III.46**, **Tabla III.47** y **Tabla III.48** el mayor número de correlaciones halladas en los tejidos de las doradas se da para la acumulación en el hígado y branquia donde se establecen las

siguientes correlaciones positivas Cd-Pb, Zn-Pb, Zn-Cd y Zn-Cu en el hígado y Zn-As, Cu-Pb, Zn-Pb y Cu-Zn en branquias. En la acumulación de los metales en las branquias se observa como el Cd no presenta correlación con ninguno de los metales, lo que hace pensar en una incorporación de este metal independiente a la de los otros metales. Y por último, el músculo es el tejido para el que se establecen menos correlaciones entre el contenido de los metales, siendo la única la que se establece entre el Zn y el Pb.

**TABLA III.46.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en hígado de doradas de la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |      |             |             |             |    |
|----|------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1    |             |             |             |    |
| Pb | 0,12 | 1           |             |             |    |
| Cd | 0,36 | <b>0,85</b> | 1           |             |    |
| Cu | 0,31 | 0,31        | 0,51        | 1           |    |
| Zn | 0,25 | <b>0,64</b> | <b>0,65</b> | <b>0,68</b> | 1  |
|    | As   | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

**TABLA III.47.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en branquia de doradas de la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |             |             |       |             |    |
|----|-------------|-------------|-------|-------------|----|
| As | 1           |             |       |             |    |
| Pb | 0,43        | 1           |       |             |    |
| Cd | -0,27       | 0,07        | 1     |             |    |
| Cu | 0,53        | <b>0,84</b> | -0,12 | 1           |    |
| Zn | <b>0,58</b> | <b>0,78</b> | 0,39  | <b>0,64</b> | 1  |
|    | As          | Pb          | Cd    | Cu          | Zn |

**TABLA III.48.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en músculo de doradas de la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |      |             |       |      |    |
|----|------|-------------|-------|------|----|
| As | 1    |             |       |      |    |
| Pb | 0,24 | 1           |       |      |    |
| Cd | 0,35 | 0,22        | 1     |      |    |
| Cu | 0,23 | 0,35        | -0,38 | 1    |    |
| Zn | 0,48 | <b>0,71</b> | 0,15  | 0,24 | 1  |
|    | As   | Pb          | Cd    | Cu   | Zn |

Las correlaciones obtenidas para los tejidos de lenguado difieren de las observadas anteriormente para doradas, como se observa en las **Tabla III.49**, **Tabla III.50** y **Tabla III.51**. En los lenguados las correlaciones más importantes entre el contenido de los metales se establecen en músculo, con correlaciones positivas de Pb con Cd, Cu y Zn y correlaciones de Cu con Cd y Zn. Mientras en el hígado los metales no están correlacionados, y en branquias las correlaciones más importantes son de Pb-As y Cu-Cd. Con este estudio se observa que existen diferencias entre las especies estudiadas en relación con la incorporación y metabolismo de los metales.

**TABLA III.49.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en hígado de lenguado de la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |       |       |       |      |    |
|----|-------|-------|-------|------|----|
| As | 1     |       |       |      |    |
| Pb | -0,13 | 1     |       |      |    |
| Cd | 0,04  | -0,49 | 1     |      |    |
| Cu | -0,16 | 0,00  | 0,42  | 1    |    |
| Zn | -0,42 | 0,52  | -0,20 | 0,22 | 1  |
|    | As    | Pb    | Cd    | Cu   | Zn |

**TABLA III.50.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en branquia de lenguado de la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

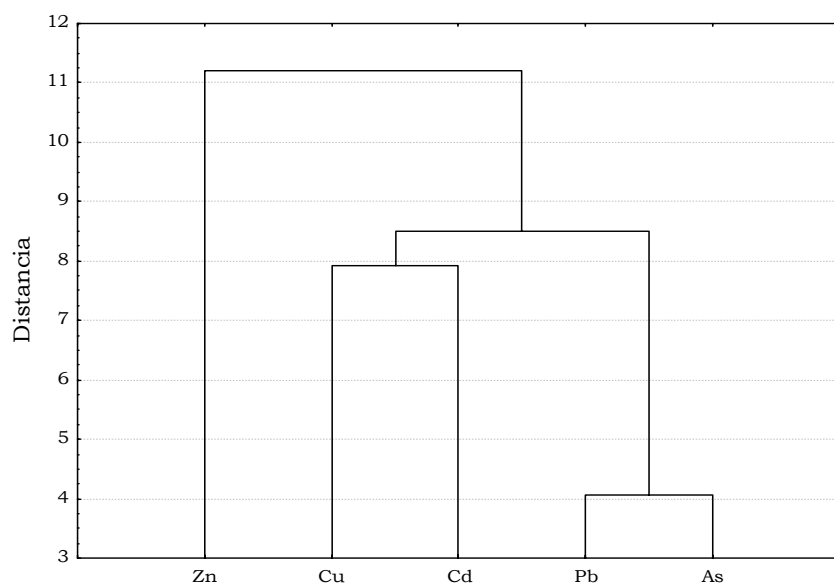
|    |             |       |             |      |    |
|----|-------------|-------|-------------|------|----|
| As | 1           |       |             |      |    |
| Pb | <b>0,67</b> | 1     |             |      |    |
| Cd | -0,27       | -0,22 | 1           |      |    |
| Cu | 0,05        | -0,30 | <b>0,56</b> | 1    |    |
| Zn | 0,26        | -0,13 | 0,03        | 0,39 | 1  |
|    | As          | Pb    | Cd          | Cu   | Zn |

**TABLA III.51.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en músculo de lenguado de la Ría de Huelva (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

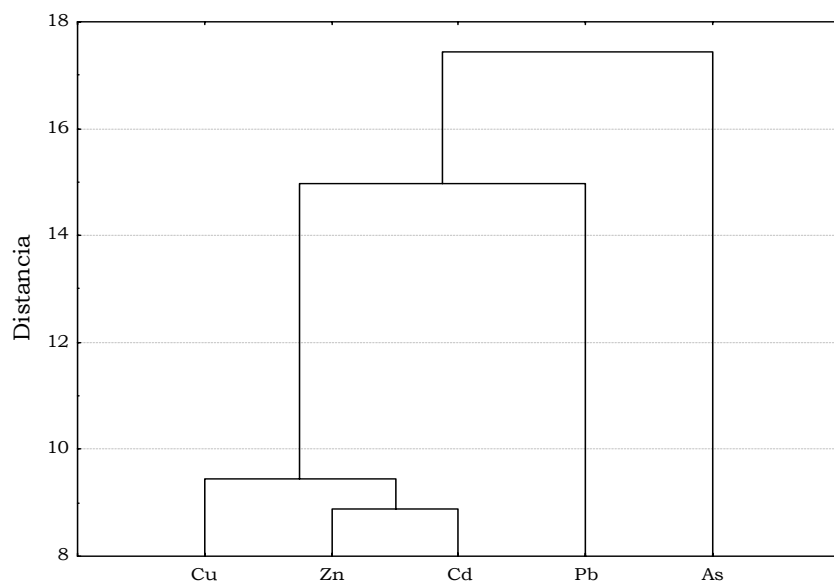
|    |       |             |             |             |    |
|----|-------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1     |             |             |             |    |
| Pb | 0,09  | 1           |             |             |    |
| Cd | 0,32  | <b>0,56</b> | 1           |             |    |
| Cu | -0,03 | <b>0,75</b> | <b>0,78</b> | 1           |    |
| Zn | 0,21  | <b>0,86</b> | 0,49        | <b>0,66</b> | 1  |
|    | As    | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

Por último se ha estudiado la similitud en los niveles de metales encontrados en cada especie estudiada, empleando el análisis de conglomerados. Los valores correspondientes a todas las variables se han estandarizado sustrayendo a cada dato el valor de la media y dividiendo este resultado entre la desviación estándar de cada variable.

Para el contenido metálico en doradas se establecen dos grupos diferenciados de niveles metálicos, por un lado el contenido de Pb y As, muy próximos entre sí, y por otro lado el contenido de Cu y Cd; además la concentración de Zn en esta especie está más diferenciada que la del resto de los metales estudiados.



**FIGURA III.31.** Dendograma del contenido de As, Pb, Cd, Cu y Zn en doradas de la Ría de Huelva.



**FIGURA III.32.** Dendograma del contenido de As, Pb, Cd, Cu y Zn en lenguados de la Ría de Huelva.



Las semejanzas entre los contenidos los metales en lenguados difieren de los encontrados para las doradas. El Zn y el Cd están estrechamente agrupados y a su vez próximos al comportamiento del Cu, siendo éstos los metales más biodisponibles en sedimentos según el esquema de especiación aplicado. Por su parte el Pb y el As que son los metales menos biodisponibles de los sedimentos, están más diferenciados del resto. Así, parece haber una relación entre la disponibilidad de los metales en los sedimentos con el grado similitud de estos en los lenguados, lo que podría indicar una mayor incorporación de estos metales desde los sedimentos que desde las aguas.

### **III.3. DISTRIBUCIÓN METÁLICA EN LA BAHÍA DE CÁDIZ**

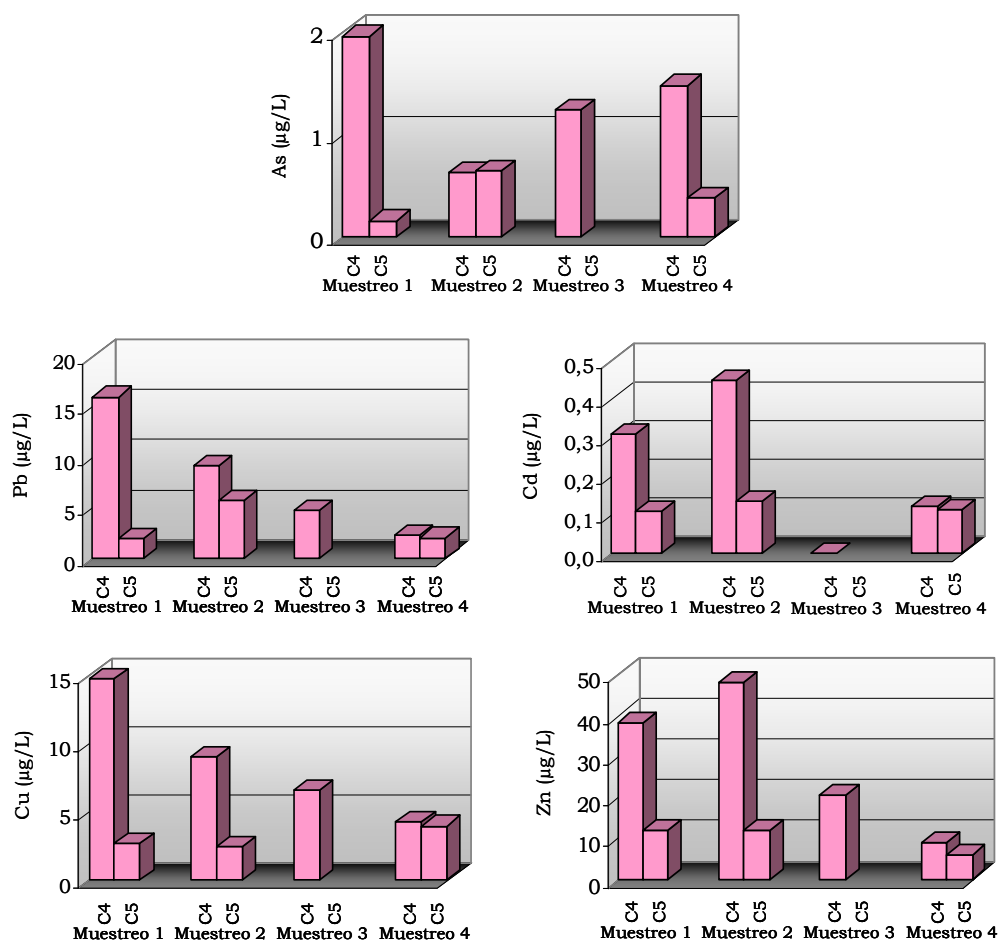
#### **III.3.1. CONTENIDO METÁLICO EN AGUA**

##### **III.3.1.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN AGUA**

Las concentraciones totales de metales en los puntos de muestreo de la Bahía de Cádiz están incluidos dentro de los siguientes intervalos: Zn: 6,15–48,30  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Cd: 0–0,45  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Pb: 1,92–16,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; Cu: 2,51–14,82  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; y As: 0,16–1,96  $\mu\text{g L}^{-1}$  (**Figura III.33**), los resultados de estos análisis se recogen en el Anexo A.3. Estos valores son en general significativamente inferiores a los niveles detectados en la Ría de Huelva, del orden de diez veces inferior, para todos los metales excepto el Pb, cuyo intervalo de concentración es similar al que presentaba en los puntos de muestreo de Huelva. Los niveles de concentración de estos metales siguen el orden  $\text{Zn} > \text{Cu} \geq \text{Pb} > \text{As} > \text{Cd}$ , siendo el mismo que el que se encontró en Huelva, aunque en este caso Pb y Cu tienen niveles muy parecidos.

Se ha estudiado la influencia estacional y espacial de los niveles totales de metales en agua. Los resultados obtenidos para la concentración total de los metales estudiados corresponden a distribuciones normales y homogéneas respecto a la estación del año en que se muestrea, pero en el caso de Cd y Zn no son homogéneas respecto a los puntos de muestreo, aunque se realice una transformación logarítmica de los resultados. Por ello, para realizar el estudio

de la influencia estacional se ha empleado el análisis de la varianza (ANOVA paramétrico) (**Tabla III.52**), mientras que para el estudio de la influencia espacial se ha empleado el análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrico) (**Tabla III.53**). Estos estudios indican que no existe una tendencia estacional en la concentración de los metales en los puntos de la Bahía de Cádiz. Solo para Cu se han encontrado diferencias estadísticas significativas entre los puntos de muestreo C4 y C5, de forma general los niveles de Cu son mayores en C4 que en C5.



**FIGURA III.33.** Concentración total de As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua en las estaciones de la Bahía de Cádiz, para cada campaña de muestreo.

**TABLA III.52.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional sobre los niveles de metales en las aguas de la Bahía de Cádiz (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| METAL | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|-------|---------------------------------|----|---------------------|-------|-------|
| As    | 0,19                            | 1  | 0,19                | 0,415 | 0,548 |
| Pb    | 16,28                           | 1  | 16,28               | 0,812 | 0,409 |
| Cd    | 38,72                           | 1  | 38,72               | 0,127 | 0,736 |
| Cu    | 12,86                           | 1  | 12,86               | 0,441 | 0,536 |
| Zn    | 0,01                            | 1  | 0,01                | 0,282 | 0,618 |

**TABLA III.53.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto espacial en los niveles de metales en las aguas de la Bahía de Cádiz (grado de libertad 1, 7 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| METAL | H          | SIG.          |
|-------|------------|---------------|
| As    | 3,125      | 0,0771        |
| Pb    | 2          | 0,1573        |
| Cd    | 0,5        | 0,4795        |
| Cu    | <b>4,5</b> | <b>0,0339</b> |
| Zn    | 2          | 0,1573        |

Se ha estudiado la relación entre el contenido total de metales en agua y sus características generales. Para ello, se ha realizado la correlación lineal de Pearson (paramétrica) entre los niveles totales de los metales y los parámetros físico-químicos y generales (**Tabla III.54**). Estos parámetros o sus transformadas logarítmicas se ajustan a distribuciones normales (anexo A.4). Caben destacar las altas correlaciones encontradas entre las concentraciones de Pb, Cu y Zn con el pH, siendo en todos los casos negativa. Destaca también la alta correlación positiva que se establece entre la concentración de Cu con los sólidos en suspensión de la columna de agua.

**TABLA III.54.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los parámetros físico-químicos y parámetros generales con los niveles totales de metales en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO               | As    | Pb           | Cd    | Cu           | Zn           |
|-------------------------|-------|--------------|-------|--------------|--------------|
| T <sup>a</sup>          | 0,30  | 0,49         | 0,33  | 0,35         | 0,30         |
| pH                      | -0,54 | <b>-0,81</b> | -0,64 | <b>-0,88</b> | <b>-0,77</b> |
| O <sub>2</sub>          | -0,36 | -0,50        | -0,65 | -0,52        | -0,48        |
| Salinidad               | 0,06  | 0,12         | 0,39  | 0,21         | 0,58         |
| Sol. Susp. <sup>a</sup> | 0,70  | 0,68         | 0,06  | <b>0,78</b>  | 0,33         |
| % M.O. (Sol.Susp.)      | -0,20 | 0,29         | 0,16  | -0,08        | 0,14         |
| COD                     | 0,53  | -0,01        | -0,19 | 0,21         | -0,24        |
| % M.O. sedimento        | -0,25 | -0,42        | 0,18  | -0,41        | -0,30        |

<sup>a</sup> variable transformada logarítmicamente (logx)

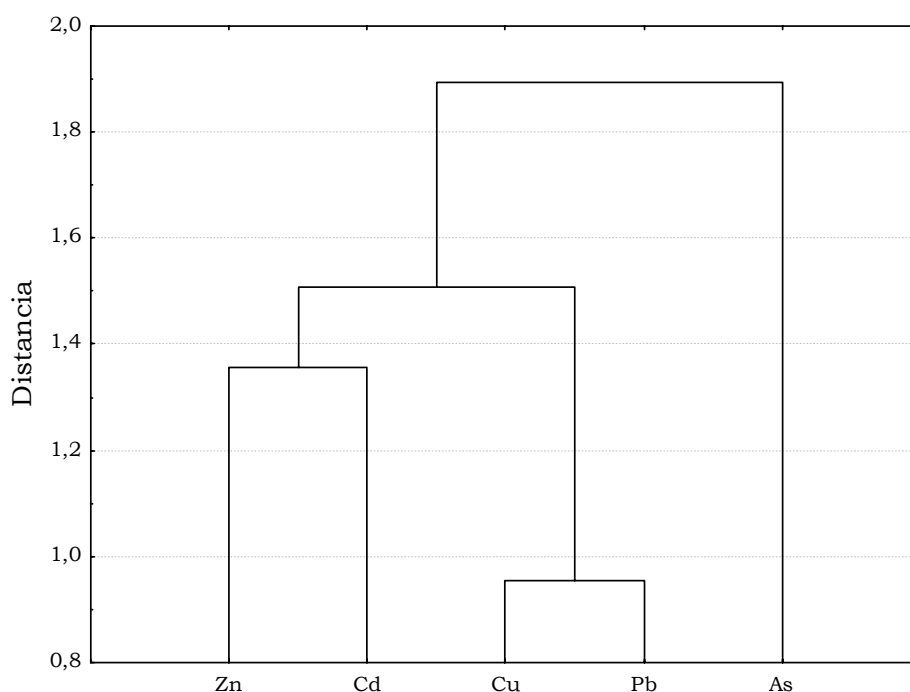
Por otro lado comparando las concentraciones metálicas entre sí, se han obtenido altas correlaciones positivas de Zn con Pb, Cd y Cu, así como entre Cu y Pb. La correlación entre Zn y Cd también se ha descrito para las aguas de Huelva. Estas correlaciones pueden estar indicando un aporte o comportamiento común de estos metales en las aguas.

**TABLA III.55.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los niveles totales de metales en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

|    |      |             |             |             |    |
|----|------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1    |             |             |             |    |
| Pb | 0,61 | 1           |             |             |    |
| Cd | 0,12 | 0,68        | 1           |             |    |
| Cu | 0,70 | <b>0,92</b> | 0,62        | 1           |    |
| Zn | 0,32 | <b>0,81</b> | <b>0,85</b> | <b>0,81</b> | 1  |
|    | As   | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

Para evaluar el grado de similitud entre los metales se ha representado en la **Figura III.34** el dendograma de los metales analizados en las aguas de la Bahía de Cádiz. En la figura se pueden apreciar dos agrupaciones más

significativas. Por un lado el contenido de Cu y Pb, y por otro, la concentración de Zn y Cd. Estas agrupaciones se corresponden con las relaciones de la **Tabla III.55** que tienen un coeficiente de correlación mayor. El As no pertenece a ningún grupo, del mismo modo que no presentaba correlación lineal significativa con ningún metal, de lo que se puede concluir que este metal tiene un origen independiente en las aguas de la Bahía. Comparando estos resultados con los obtenidos en Huelva, aparece la misma agrupación de Zn con Cd. Sin embargo, en Huelva se encontró una agrupación entre Pb y As que en Cádiz no se da, obteniéndose la agrupación Pb-Cu. Por tanto, en este caso el comportamiento del contenido de plomo se diferencia en ambas zonas.



**FIGURA III.34.** Dendrograma de los niveles totales de As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua en las estaciones de la Bahía de Cádiz.

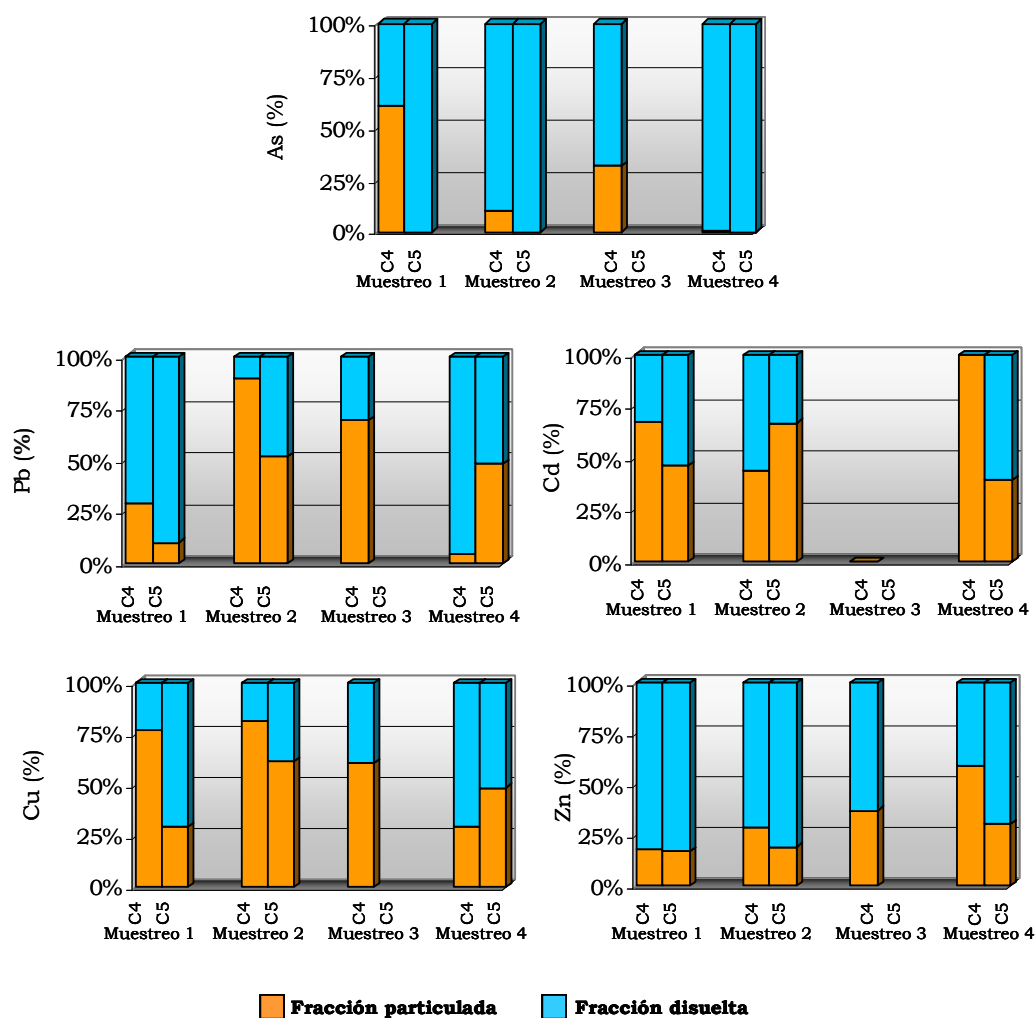
### III.3.1.2. DISTRIBUCIÓN METÁLICA ENTRE LAS FASES DISUELTA Y PARTICULADA

La **Figura III.35** recoge la distribución de los metales entre las fases disuelta y particulada en porcentaje, en los puntos de la Bahía de Cádiz. Los resultados obtenidos, cuyos valores se recogen en el anexo A.3, muestran que Zn y As están distribuidos principalmente en la fase disuelta (40,9–83,4% y 34,4–100%, respectivamente). Por el contrario, Cu y Cd aparecen distribuidos principalmente en la fase particulada (29,7–81,2% y 39,4–100%, respectivamente). En el caso del Pb se observan dos situaciones diferentes, en los muestreos primero y cuarto el metal se encuentra principalmente en la fase disuelta y sin embargo en los muestreos segundo y tercero casi todo el metal se encuentra en la fase particulada. Comparando estos resultados con los descritos anteriormente en Huelva se observan diferencias en la distribución de Cd y Pb: el primero presenta una disponibilidad en Cádiz mucho menor que la observada en Huelva, mientras que el segundo, y solo para algunos de los muestreos realizados, ha visto incrementado su porcentaje asociado a la fracción disuelta con respecto a lo descrito en Huelva.

Atendiendo a sus porcentajes medios en la fase disuelta, los metales se pueden ordenar en función de su disponibilidad como sigue: As > Zn > Pb > Cu > Cd, siendo el porcentaje medio para cada metal en la fase disuelta el siguiente: 85,3% > 70,1% > 56,9% > 44,5% > 33,6%. Realizando la comparación con el orden de disponibilidad obtenido en la Ría de Huelva, la principal diferencia la encontramos en el comportamiento del Cd, que es uno de los metales más disponibles en Huelva junto con el arsénico y el metal menos disponible en Cádiz.

También se ha calculado el coeficiente de reparto entre las fases particulada y disuelta, el cual está comprendido de 0 a 2,2 para As; 0,4 a 167 para Pb; 2,2 a 39,3 para Cd; 3,4 a 87,6 para Cu y de 0,2 a 28,3 en el caso de Zn (**Tabla III.56**). Por lo tanto, son Pb y Cu los metales con mayor coeficiente de reparto y los que muestran una mayor tendencia a ser transportados por la fracción particulada de las aguas. A partir de estos datos se puede decir que el aumento del porcentaje de la fracción particulada de Cd está asociado a un aumento en la densidad de sólidos en suspensión en las aguas, no a un comportamiento distinto del Cd, ya que presentan unos valores similares para el coeficiente de reparto en Huelva y Cádiz con unos coeficientes de reparto medios de 16,3 y 17,4 L g<sup>-1</sup>, respectivamente. Para los otros metales se observa una disminución en el coeficiente de reparto medio de Cádiz respecto

a los valores encontrados en Huelva y los descritos en la bibliografía [CHIFFOLEAU y col., 1994; COBELO-GARCÍA y col., 2004a].



**FIGURA III.35.** Distribución del contenido de As, Pb, Cd, Cu y Zn entre las fases disuelta y particulada en agua en las estaciones de la Bahía de Cádiz.

**TABLA III.56.** Coeficientes de reparto  $K_d$  ( $L\ g^{-1}$ ) entre la materia suspendida y la columna de agua para As, Pb, Cd, Cu y Zn en las aguas de la Bahía de Cádiz.

| MUESTREO | ESTACIÓN DE MUESTREO | COEFICIENTE DE REPARTO $K_d$ |       |      |      |      |
|----------|----------------------|------------------------------|-------|------|------|------|
|          |                      | As                           | Pb    | Cd   | Cu   | Zn   |
| 1        | C4                   | 1,6                          | 0,4   | 2,2  | 3,4  | 0,2  |
|          | C5                   | 0,0                          | 3,3   | 25,1 | 12,2 | 5,7  |
| 2        | C4                   | 2,2                          | 167,0 | 16,0 | 87,6 | 8,1  |
|          | C5                   | 0,0                          | 20,5  | 39,3 | 31,0 | 4,6  |
| 3        | C4                   | 1,9                          | 9,1   | -    | 6,3  | 2,4  |
|          | C5                   | -                            | -     | -    | -    | -    |
| 4        | C4                   | 0,2                          | 0,9   | -    | 8,4  | 28,3 |
|          | C5                   | 0,0                          | 6,5   | 4,6  | 6,7  | 3,1  |

Se ha estudiado si la distribución de los metales entre las fases disuelta y particulada en las aguas de Cádiz está sujeta a una influencia estacional o si existen diferencias entre los dos puntos de muestreos estudiados. Este estudio se ha llevado a cabo sobre el porcentaje de fracción disuelta, al igual que se realizó en las aguas de Huelva, dado que la fracción disuelta y particulada son complementarias y cualquiera de las dos son válidas para realizar este estudio. Los porcentajes de fracción disuelta de todos los metales estudiados o su transformada logarítmica si se ha necesitado, son distribuciones normales y homogéneas (anexo A.4), por eso se han empleado estadísticos paramétricos para realizar este estudio. Los resultados obtenidos del análisis de la varianza (ANOVA) respecto a la estación y a los puntos de muestreo se han incluido en la **Tabla III.57** y **III.58**. Éstos han revelado que no existen diferencias estadísticas significativas en la distribución entre la fase disuelta y particulada de los metales, entre los muestreos de otoño y los muestreos de primavera-verano, como tampoco se han encontrado diferencias significativas para la distribución de los metales entre los dos puntos de muestreo estudiados.



**TABLA III.57.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional del porcentaje de fracción disuelta de los metales en las aguas de la Bahía de Cádiz (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| % FRACCION DISUELTA | TIPO VI SUMA DE CUADRADOS | GL | MEDIA CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|---------------------|---------------------------|----|------------------|-------|-------|
| As <sup>1</sup>     | 0,05                      | 1  | 0,05             | 2,317 | 0,203 |
| Pb                  | 1086,26                   | 1  | 1086,26          | 1,154 | 0,343 |
| Cd                  | 36,233                    | 1  | 36,233           | 0,057 | 0,823 |
| Cu                  | 5,04                      | 1  | 5,04             | 0,008 | 0,933 |
| Zn                  | 380,98                    | 1  | 380,98           | 1,711 | 0,261 |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )**TABLA III.58.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial del porcentaje de fracción disuelta de los metales en las aguas de la Bahía de Cádiz (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| % FRACCION DISUELTA | TIPO VI SUMA DE CUADRADOS | GL | MEDIA CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|---------------------|---------------------------|----|------------------|-------|-------|
| As <sup>1</sup>     | 0,03                      | 1  | 0,03             | 1,405 | 0,301 |
| Pb                  | 28,31                     | 1  | 28,31            | 0,023 | 0,886 |
| Cd                  | 568,62                    | 1  | 568,62           | 1,131 | 0,347 |
| Cu                  | 38,54                     | 1  | 386,54           | 0,725 | 0,442 |
| Zn                  | 261,87                    | 1  | 261,87           | 1,037 | 0,366 |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

Además, se ha estudiado que parámetros controlan la distribución de los metales en la Bahía de Cádiz. Para ello, se ha calculado la correlación de Pearson (paramétrica) entre las fracciones disueltas de los metales y los parámetros físico-químicos analizados (**Tabla III.59**). De igual forma, se han estudiado las correlaciones que se establecen entre las distintas fracciones de los metales entre sí (**Tabla III.60**).

**TABLA III.59.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los parámetros físico-químicos y la fracción disuelta de los metales en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO               | As <sup>1</sup> | Pb           | Cd    | Cu          | Zn    |
|-------------------------|-----------------|--------------|-------|-------------|-------|
| T <sup>a</sup>          | -0,27           | -0,57        | 0     | -0,72       | 0,07  |
| pH                      | 0,69            | 0,54         | -0,13 | <b>0,86</b> | -0,08 |
| O <sub>2</sub>          | 0,23            | 0,40         | 0,06  | 0,60        | 0,20  |
| Salinidad               | 0,08            | <b>-0,76</b> | 0,09  | -0,49       | -0,35 |
| Sol. Susp. <sup>2</sup> | <b>-0,92</b>    | -0,07        | -0,04 | -0,50       | 0,17  |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.)   | 0,00            | -0,22        | 0,20  | -0,37       | 0,68  |
| COD                     | -0,23           | 0,20         | -0,40 | 0,10        | -0,62 |
| % M.O.<br>sedimento     | 0,62            | 0,52         | -0,46 | 0,57        | -0,40 |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ ); <sup>2</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x)$ )

El contenido de sólidos en suspensión de las aguas influye en la distribución de As, al aumentar éstos aumenta el porcentaje de fracción particulada de este metal. La salinidad, por su parte, correlaciona con la distribución de Pb, de modo que un aumento en la salinidad se corresponde con un aumento en el porcentaje de Pb retenido en la fase particulada. El último metal para el que se ha encontrado correlación con alguno de los parámetros físico-químicos es Cu, cuyo porcentaje de fracción disuelta se ve incrementado cuando lo hace el pH. Si se compara como afectan los parámetros físico-químicos a la distribución de los metales entre la fase disuelta y particulada en las aguas de Huelva con las aguas de Cádiz se encuentran situaciones distintas, ya que los parámetros estudiados no afectan a lo mismos metales en ambas zonas. Mientras en Huelva los metales que se ven afectados en su distribución por algunos parámetros son Pb y Cd, en Cádiz son As, Pb y Cu.

**TABLA III.60.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre las fracciones disueltas en tanto por ciento de los metales en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

|                 |                 |      |      |      |     |
|-----------------|-----------------|------|------|------|-----|
| As <sup>1</sup> | 1,00            |      |      |      |     |
| Pb              | 0,02            | 1,0  |      |      |     |
| Cd              | 0,12            | -0,6 | 1,00 |      |     |
| Cu              | 0,56            | 0,8  | -0,3 | 1,0  |     |
| Zn              | -0,26           | -0,2 | 0,7  | -0,4 | 1,0 |
|                 | As <sup>a</sup> | Pb   | Cd   | Cu   | Zn  |

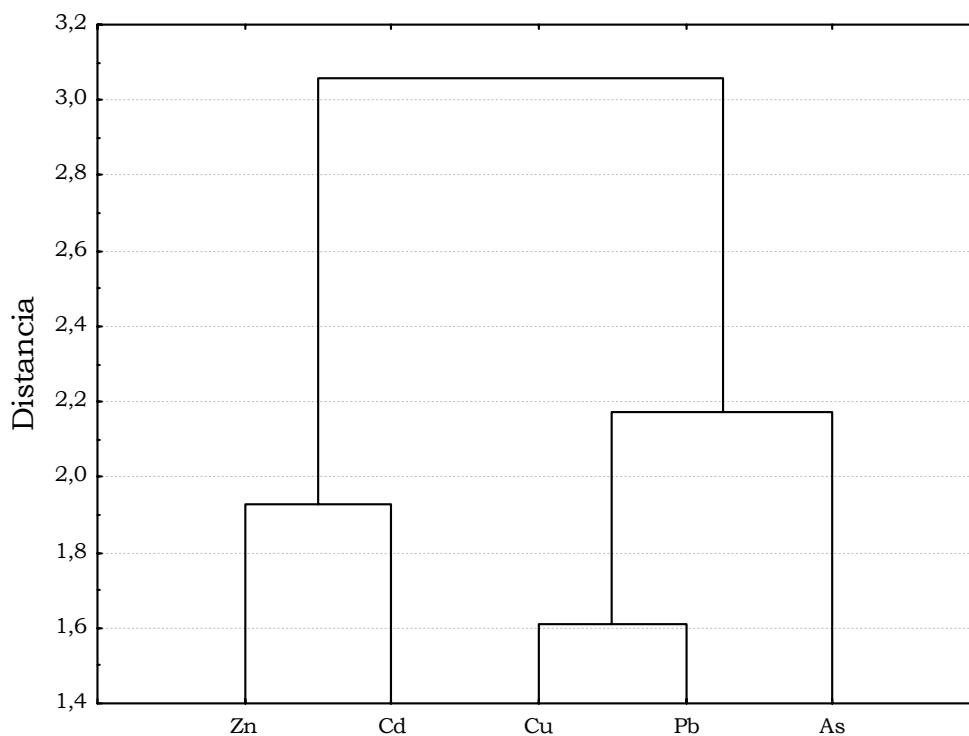
<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

Por último, cabe destacar que no se han hallado correlaciones lineales significativas entre las fracciones de los metales estudiados. Por lo tanto, no se observa que los metales estudiados sigan un patrón común en su distribución entre la fracción disuelta y particulada. Por el contrario, en Huelva si que se ha encontrado una relación entre la distribución de Zn y Cd y de Zn y Cu.

De todo ello se concluye el diferente carácter de los niveles metálicos en ambos ecosistemas, bastantes cercanos geográficamente, pero con un comportamiento para estos metales en sus aguas bastante diferente.

Se ha estudiado también el grado de similitud que existe en la distribución entre la fase disuelta y particulada de los metales mediante el análisis de conglomerados (el dendograma obtenido se recoge en la **Figura III.36**). De este estudio puede concluirse que existen dos grupos con un comportamiento semejante: por un lado el porcentaje de Zn y Cd disuelto, y por otro lado, el grupo formado por Cu y Pb. Por su parte, As está más próximo al grupo formado Cu y Pb. La similitud entre Cd y Zn ya se ha observado en la Ría de Huelva, sin embargo Cu tiene una semejanza diferente ya que en Huelva aparece también próximo a Cd y Zn. Por último, As es el metal que menos similitud presenta con los otros en ambos sistemas. Hay que indicar que para estos metales entre los que se han encontrado similitud, a pesar de no estar correlacionados entre sí con una significación  $p < 0,05$  muestran unos coeficientes de correlación elevados de 0,7 y 0,8

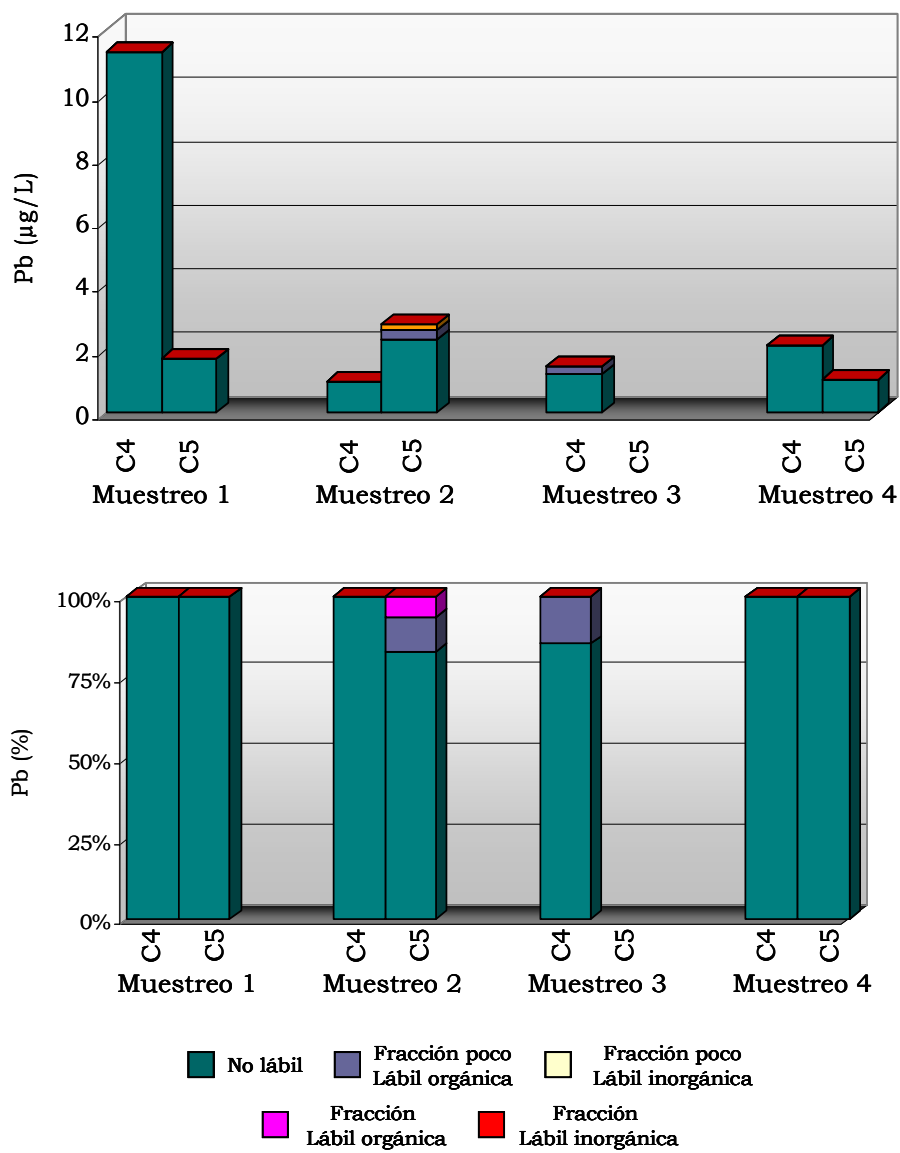
respectivamente, con una significación de  $p$  próximo a 0,1, lo cual indica que existe alguna correlación entre estos metales, como se concluye del análisis de conglomerado, pero no con el suficiente grado de significación.



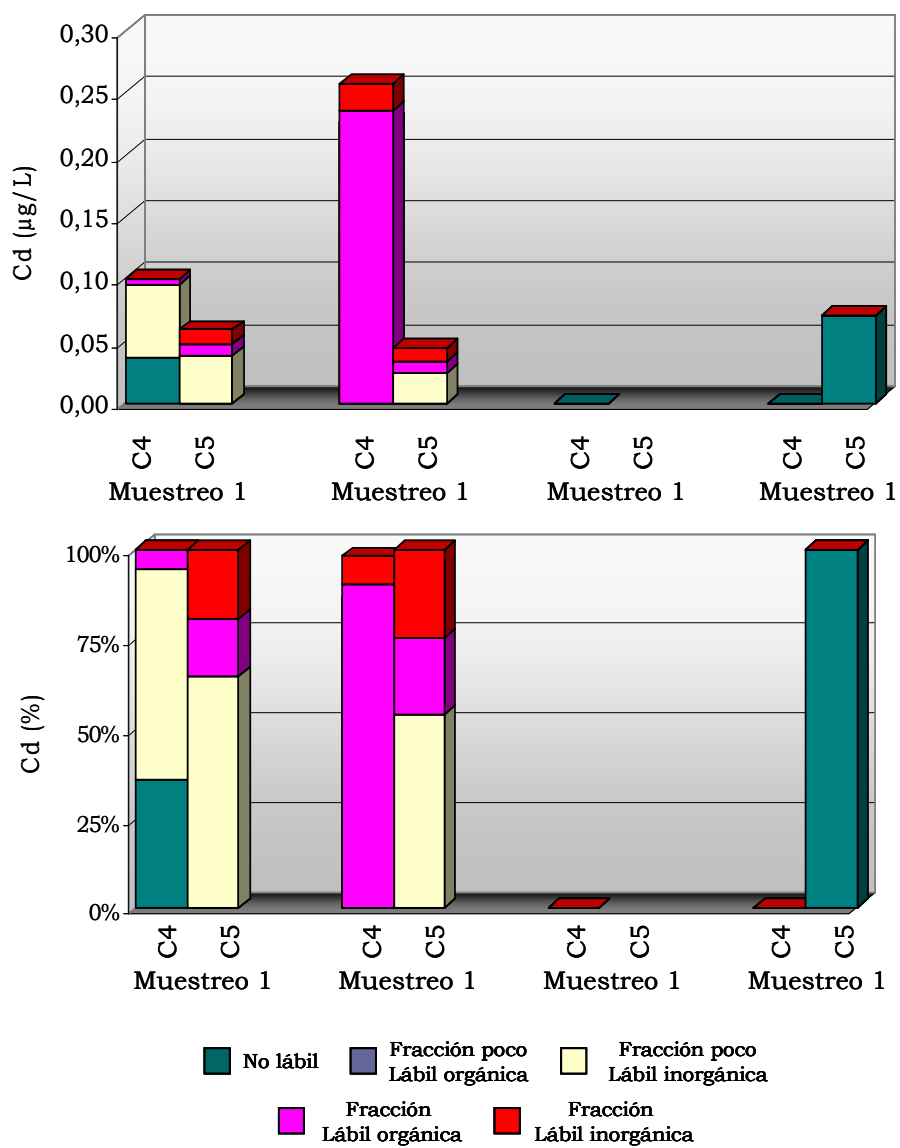
**FIGURA III.36.** Dendrograma de las fracciones disueltas en tanto por ciento de As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua en las estaciones de la Bahía de Cádiz.

### III.3.1.3. ESPECIACIÓN DEL Zn, Cd, Cu y Pb DISUELTO

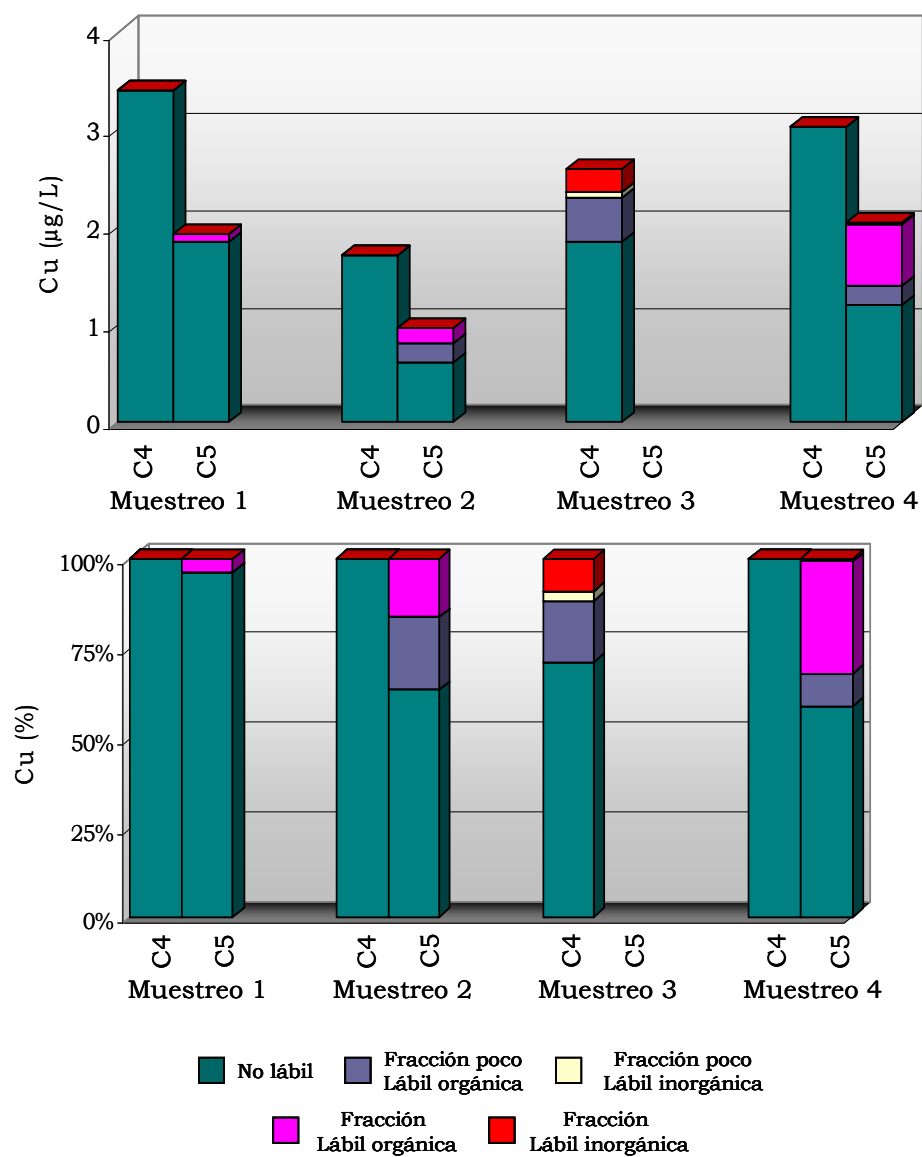
A continuación se va a evaluar la especiación metálica en la fase disuelta entre las fracciones lábiles y poco lábiles, tanto inorgánica como orgánica, y la fracción inerte. En las **Figuras III.37, III.38, III.39 y III.40** se han representado los valores de los metales en cada fase así como sus porcentajes.



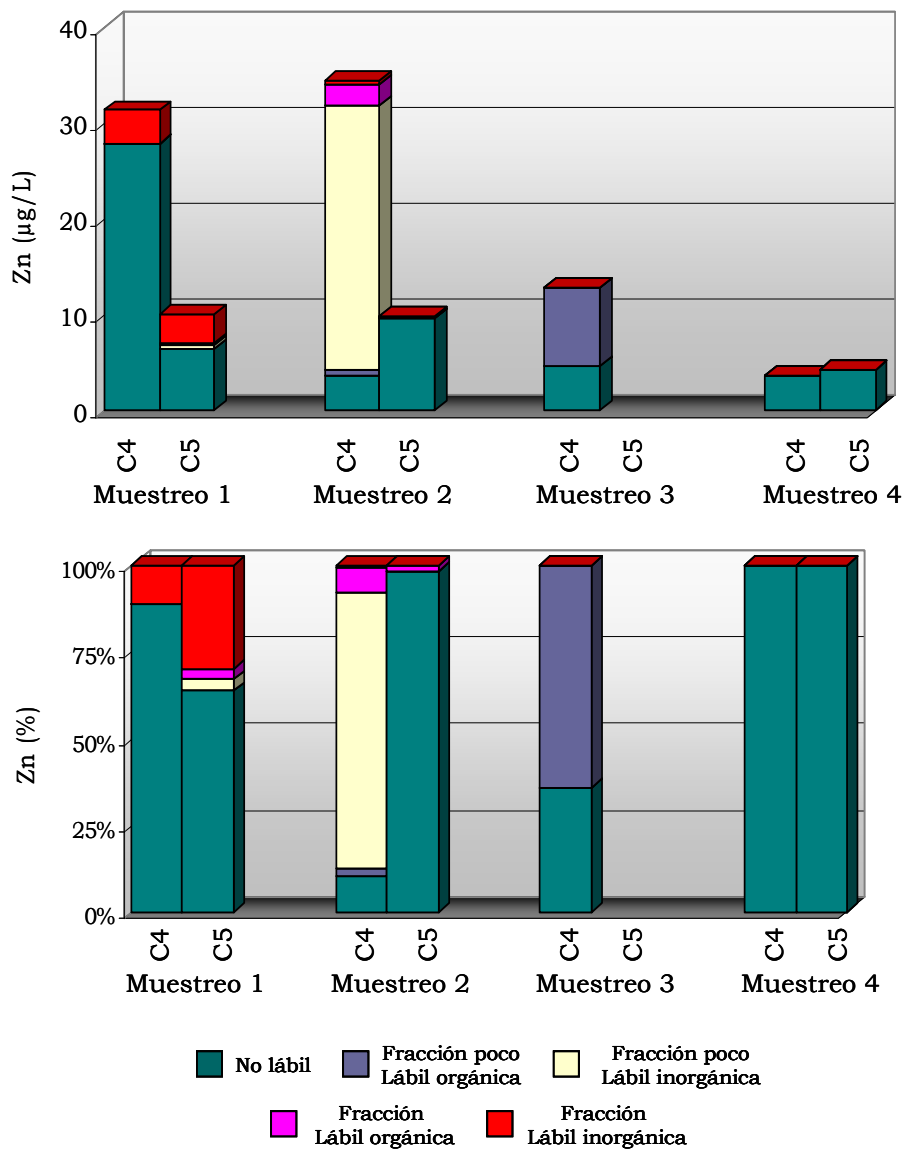
**FIGURA III.37.** Especiación de Pb disuelto en aguas de la Bahía de Cádiz.



**FIGURA III.38.** Especiación de Cd disuelto en aguas de la Bahía de Cádiz.



**FIGURA III.39.** Especiación de Cu disuelto en aguas de la Bahía de Cádiz.



**FIGURA III.40.** Especiación de Zn disuelto en aguas de la Bahía de Cádiz.



Estos resultados obtenidos para la especiación metálica sugieren el siguiente comportamiento de estos metales en la Ría de Huelva.

**-Pb:** en Cádiz el Pb vuelve a ser el metal menos disponible, al igual que ocurría en la Ría de Huelva, ya que aparece de forma mayoritaria a la fracción inerte, que constituye durante el primer y el último muestreo la única fracción de Pb.

**-Cd:** en los dos primeros muestreos se encuentra mayoritariamente asociado a la fracción lábil orgánica y la fracción poco lábil inorgánica. En el tercer y cuarto muestreo no se ha encontrado Cd disuelto en la estación de muestreo C4, mientras que en el último muestreo la totalidad del Cd disuelto encontrado en la estación C5 aparece en su forma no lábil. Cabe destacar que en C5, tanto en el primer muestreo como en el segundo existe un porcentaje significativo del metal más disponible, es decir, la fracción lábil inorgánica.

**-Cu:** aparece principalmente en su forma no lábil. En la estación C5 también aparece asociado a la materia orgánica, tanto en su forma lábil como en su forma poco lábil. En la estación C4 y solo para el tercer muestreo se encuentra un pequeño porcentaje de metal muy lábil, así como cierto porcentaje de metal poco lábil, junto con el metal no lábil.

**-Zn:** en la Bahía de Cádiz aparece disuelto en sus formas químicas menos disponibles, siendo la fracción inerte la mayoritaria durante el primer y último muestreo en los puntos estudiados, llegando a ser esta fase la única presente durante el último muestreo. Las fracciones poco lábiles fueron mayoritarias en el punto de muestreo C4 en los muestreos realizados en el 2005, la fracción poco lábil inorgánica en el segundo muestreo (79,7%) y la fracción poco lábil orgánica en el tercer muestreo (64,1%).

Con estos resultados se pueden ordenar los metales en orden de disponibilidad como sigue  $Cd > Zn > Cu > Pb$ . Este es el mismo orden de disponibilidad que se ha establecido en Huelva, sin embargo se observa como en general la disponibilidad de los metales disueltos en agua es mucho menor en Cádiz si la comparamos con Huelva, ya que para todos los metales estudiados se observa un aumento en el porcentaje de las fracciones poco o nada disponibles con respecto a lo observado en Huelva, a excepción de As que presenta una especiación similar en ambos sistemas.

Para estudiar la posible influencia espacial y estacional en la especiación de los metales disueltos y dada las características de las distribuciones de estos resultados, que no se ajustan a distribuciones normales (anexo A.4), se han aplicado los correspondientes análisis no paramétricos de comparación de las varianzas (**Tabla III.61 y III.62**).

**TABLA III.61.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto estacional de la especiación de Pb, Cd, Cu y Zn disuelto en las aguas de la Bahía de Cádiz (grado de libertad 1, 7 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| FRACCIONES                         | H            | SIG.         |
|------------------------------------|--------------|--------------|
| Pb% fracción lábil inorgánica      | 0            | 1            |
| Pb % fracción lábil orgánica       | 0            | 1            |
| Pb% fracción poco lábil inorgánica | 0            | 1            |
| Pb % fracción poco lábil orgánica  | 0,194        | 0,659        |
| Pb % fracción no lábil             | 0,342        | 0,559        |
| Cd% fracción lábil inorgánica      | 0,152        | 0,697        |
| Cd % fracción lábil orgánica       | 0,135        | 0,714        |
| Cd% fracción poco lábil inorgánica | <b>1,846</b> | <b>0,017</b> |
| Cd % fracción poco lábil orgánica  | 0,750        | 0,387        |
| Cd % fracción no lábil             | 0,609        | 0,435        |
| Cu% fracción lábil inorgánica      | 0,194        | 0,659        |
| Cu % fracción lábil orgánica       | 0,609        | 0,435        |
| Cu% fracción poco lábil inorgánica | 1,333        | 0,248        |
| Cu % fracción poco lábil orgánica  | 0,152        | 0,697        |
| Cu % fracción no lábil             | 0,135        | 0,714        |
| Zn% fracción lábil inorgánica      | 1,864        | 0,172        |
| Zn % fracción lábil orgánica       | 0,152        | 0,697        |
| Zn% fracción poco lábil inorgánica | 0            | 1            |
| Zn % fracción poco lábil orgánica  | 0,135        | 0,714        |
| Zn % fracción no lábil             | 1,145        | 0,285        |

**TABLA III.62.** *Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto espacial de la especiación de Pb, Cd, Cu y Zn disueltos en las aguas de la Bahía de Cádiz (grado de libertad 1, 7 casos y nivel de significación  $p < 0,05$ ).*

| FRACCIONES                         | H            | SIG.         |
|------------------------------------|--------------|--------------|
| Pb% fracción lábil inorgánica      | 0            | 1            |
| Pb % fracción lábil orgánica       | 0,194        | 0,659        |
| Pb% fracción poco lábil inorgánica | 0            | 1            |
| Pb % fracción poco lábil orgánica  | 0            | 1            |
| Pb % fracción no lábil             | 0            | 1            |
| Cd% fracción lábil inorgánica      | 1,864        | 0,172        |
| Cd % fracción lábil orgánica       | 1,212        | 0,271        |
| Cd% fracción poco lábil inorgánica | 0,951        | 0,329        |
| Cd % fracción poco lábil orgánica  | 0,750        | 0,387        |
| Cd % fracción no lábil             | 0            | 1            |
| Cu% fracción lábil inorgánica      | 0            | 1            |
| Cu % fracción lábil orgánica       | <b>5,478</b> | <b>0,019</b> |
| Cu% fracción poco lábil inorgánica | 0,750        | 0,387        |
| Cu % fracción poco lábil orgánica  | 0,952        | 0,329        |
| Cu % fracción no lábil             | 3,357        | 0,067        |
| Zn% fracción lábil inorgánica      | 0            | 1            |
| Zn % fracción lábil orgánica       | 0,342        | 0,559        |
| Zn% fracción poco lábil inorgánica | 0            | 1            |
| Zn % fracción poco lábil orgánica  | 0,135        | 0,714        |
| Zn % fracción no lábil             | 0,795        | 0,373        |

La especiación de los metales entre las distintas fracciones disueltas, no presenta diferencias reseñables entre los muestreos llevados a cabo en otoño y los llevados a cabo en primavera y verano, excepto para la fracción poco lábil inorgánica de Cd, que es la fracción mayoritaria en el único muestreo realizado en otoño para el que se ha encontrado niveles de Cd. Esta fracción no se detecta en los muestreos realizados en primavera excepto en el

segundo muestreo en el punto de Puente Zuazo. Esta situación difiere de la encontrada en Huelva donde se describió una influencia estacional en algunas de las fracciones disueltas de Cd, Cu y Zn. Así mismo, tampoco existen diferencias en la especiación disuelta de los metales entre los puntos de muestreo estudiados, excepto para la fracción lábil orgánica de Cu, la cuál siempre aparece en mayor o menor medida en la estación C5 pero no aparece en la estación C4. Este metal también presentaba una influencia espacial en los puntos de la Ría de Huelva, pero en ese caso era la fracción poco lábil inorgánica: en Huelva también se encontró una influencia espacial en la fracción lábil inorgánica de Cd que en Cádiz no se ha encontrado.

Al igual que en casos anteriores se ha estudiado si existe correlación entre los parámetros físico-químicos evaluados y la especiación metálica en las aguas. Para ello y dado que las distribuciones son no paramétricas se ha utilizado el análisis de Spearman (Tablas **III.63**, **III.64**, **III.65**, **III.66**).

**TABLA III.63.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Pb disuelto en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     |                             | <b>0,80</b>               |                                  | 0,22                           | -0,59               |
| pH                 |                             | -0,14                     |                                  | 0,11                           | 0,10                |
| O <sub>2</sub>     |                             | -0,09                     |                                  | 0,49                           | -0,26               |
| Salinidad          |                             | -0,27                     |                                  | 0,36                           | -0,08               |
| Sol. Susp.         |                             | 0,40                      |                                  | 0,36                           | -0,57               |
| % M.O. (Sol.Susp.) |                             | 0,66                      |                                  | 0,22                           | -0,49               |
| COD                |                             | -0,22                     |                                  | -0,27                          | 0,26                |
| % M.O. sedimento   |                             | -0,37                     |                                  | -0,68                          | 0,76                |

En el caso del Pb, la fracción mayoritaria a lo largo de todo el estudio en la Bahía de Cádiz fue la fracción inerte, como se ha indicado anteriormente. Es precisamente esta uniformidad en la especiación del Pb

disuelto la que hace que las correlaciones que se establecen entre las distintas fases disueltas con los parámetros físico-químicos no sean representativas. Sólo la fracción lábil orgánica está correlacionada positivamente con la temperatura. Es necesario indicar que para las fracciones inorgánicas tanto lábil como poco lábil no se han obtenido coeficientes de correlación ya que no se ha encontrado en ningún caso concentraciones de Pb asociado a estas fases. Las correlaciones halladas entre Pb y los parámetros estudiados difieren en Cádiz y Huelva, ya que en Huelva el contenido de carbono orgánico disuelto influía en el paso de Pb de la fracción no lábil a la fracción poco lábil orgánica, además también se halló relación entre los sólidos en suspensión con la fracción lábil orgánica.

**TABLA III.64.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cd disuelto en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | 0,12                        | 0,33                      | 0,04                             | 0,00                           | 0,37                |
| pH                 | 0,49                        | 0,25                      | 0,27                             | -0,42                          | -0,67               |
| O <sub>2</sub>     | 0,30                        | 0,19                      | 0,35                             | -0,61                          | <b>-0,79</b>        |
| Salinidad          | -0,12                       | -0,44                     | <b>-0,81</b>                     | 0,61                           | 0,04                |
| Sol. Susp.         | -0,61                       | -0,26                     | -0,12                            | -0,41                          | 0,20                |
| % M.O. (Sol.Susp.) | <b>0,96</b>                 | <b>0,80</b>               | 0,00                             | <b>0,79</b>                    | -0,26               |
| COD                | <b>-0,87</b>                | <b>-0,78</b>              | -0,59                            | -0,20                          | 0,49                |
| % M.O. sedimento   | 0,21                        | 0,00                      | 0,03                             | 0,13                           | -0,14               |

En la Bahía de Cádiz el porcentaje de materia orgánica de los sólidos en suspensión y el carbono orgánico disuelto influyen en las fracciones lábiles de Cd, tanto orgánica como inorgánica, de modo positivo el primero y de manera negativa el segundo, además el porcentaje de materia orgánica correlaciona positivamente con la fracción poco lábil orgánica. Por su parte el paso de la fracción no lábil del Cd a otras más lábiles está influenciado por el oxígeno disuelto, un aumento de este parámetro disminuye el contenido no lábil incrementando ligeramente las fracciones lábiles. Por su parte la

salinidad influye de forma negativa en la distribución de Cd en su forma poco lábil inorgánica. Comparando con las correlaciones descritas en Huelva se encuentran las mismas relaciones entre la fracción no lábil del Cd con el oxígeno disuelto y entre la fracción poco lábil inorgánica con la salinidad, sin embargo en Huelva la distribución de las fracciones más lábiles no dependía de las condiciones del sistema al contrario de lo que ocurre en Cádiz.

**TABLA III.65.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cu disuelto en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | -0,04                       | 0,30                      | -0,20                            | 0,49                           | -0,30               |
| pH                 | -0,16                       | 0,42                      | -0,10                            | 0,15                           | -0,30               |
| O <sub>2</sub>     | 0,22                        | 0,26                      | 0,41                             | 0,35                           | -0,41               |
| Salinidad          | 0,22                        | -0,47                     | 0,41                             | 0,18                           | 0,19                |
| Sol. Susp.         | 0,49                        | -0,12                     | 0,41                             | 0,37                           | -0,19               |
| % M.O. (Sol.Susp.) | -0,44                       | 0,26                      | -0,20                            | 0,19                           | -0,11               |
| COD                | 0,40                        | -0,04                     | 0,00                             | -0,06                          | -0,04               |
| % M.O. sedimento   | -0,65                       | 0,14                      | -0,65                            | -0,54                          | 0,39                |

Para el Cu se alcanzan parecidas conclusiones a las que se llegó para el Pb: la fracción mayoritaria a lo largo de todo el estudio en la Bahía de Cádiz fue la fracción inerte y no se establecen correlaciones representativas entre las distintas fases disueltas con los parámetros físico-químicos, es decir en la Bahía de Cádiz los cambios en los factores ambientales no parecen tener influencia en la forma química del Cu disuelto. Al contrario que ocurría en Huelva, donde la salinidad influía en la fracción poco lábil orgánica, la cual era una fracción muy importante en la especiación de Cu disuelto.

**TABLA III.66.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Zn disuelto en la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

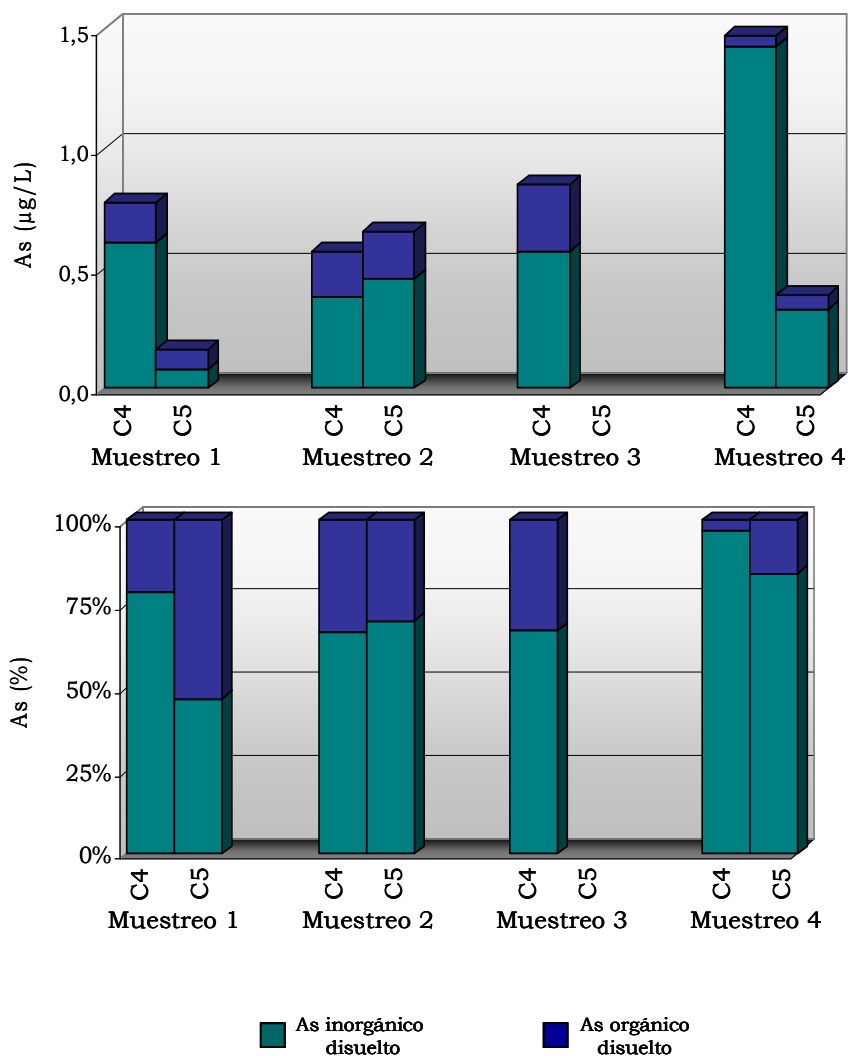
| PARÁMETRO          | % fracción lábil inorgánica | % fracción lábil orgánica | % fracción poco lábil inorgánica | % fracción poco lábil orgánica | % fracción no lábil |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | -0,26                       | -0,12                     | -0,40                            | -0,07                          | 0,20                |
| pH                 | -0,08                       | 0,21                      | 0,05                             | 0,00                           | 0,29                |
| O <sub>2</sub>     | -0,04                       | -0,02                     | -0,13                            | 0,26                           | 0,02                |
| Salinidad          | -0,51                       | 0,12                      | 0,13                             | 0,59                           | -0,36               |
| Sol. Susp.         | -0,32                       | <b>-0,77</b>              | <b>-0,76</b>                     | -0,15                          | 0,18                |
| % M.O. (Sol.Susp.) | 0,57                        | 0,49                      | 0,30                             | 0,27                           | -0,34               |
| COD                | -0,49                       | <b>-0,79</b>              | -0,58                            | -0,59                          | 0,59                |
| % M.O. sedimento   | 0,15                        | 0,33                      | 0,37                             | -0,49                          | 0,37                |

En el caso del Zn se han encontrado correlaciones significativas para la fracción inorgánica poco lábil y la fracción orgánica lábil, las cuales son formas químicas en las que se ha encontrado el Zn en el segundo muestreo junto con el Zn no lábil, siendo este muestreo en el que la fracción no lábil de Zn ha sido menos importante. La correlación de Spearman indica que la fracción lábil orgánica está correlacionada de manera negativa con el contenido de sólidos en suspensión y con el carbono orgánico disuelto, mientras que la fracción inorgánica poco lábil está correlacionada negativamente solo con el contenido de los sólidos en suspensión. Hay que señalar que estas fracciones fueron las únicas para las que no se encontró ninguna correlación en el estudio llevado a cabo en la Ría de Huelva, lo cuál es debido a la distribución y comportamiento diferente de Zn en ambos sistemas.

### III.3.1.3 ESPECIACIÓN DE As DISUELTO

La especiación de As disuelto inorgánico y orgánico y el porcentaje de cada especie sobre el total disuelto se recoge en la **Figura III.41**. En ella se observa como el arsénico inorgánico es la especie predominante en casi todas

las situaciones, a excepción del punto del Puente Zuazo en el primer muestreo donde la fracción inorgánica constituye un 46,6% del contenido total de arsénico disuelto, durante el segundo y tercer muestreo el porcentaje de arsénico inorgánico se mantiene entre el 65 y 70%, alcanzando los mayores porcentajes a lo largo del último muestreo con unos porcentajes del 96,9% y 84,1% en Desamparados y Puente Zuazo respectivamente.



**FIGURA III.41.** Especiación de As disuelto en aguas de la Bahía de Cádiz.



Comparando los resultados obtenidos en Cádiz y Huelva se observa un contenido de As disuelto en agua menor en Cádiz que en Huelva, con un contenido medio en cada sistema de 0,7 y 4,4  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. En Cádiz el metal disuelto corresponde aproximadamente al 85,3% del contenido medio total de As en agua, mientras que en Huelva este porcentaje sube aproximadamente hasta el 91%. Por tanto en ambos sistemas la mayoría del arsénico presente en las aguas está en forma disuelta. Así mismo en ambos sistemas el mayor porcentaje de As disuelto en agua está en forma inorgánica observándose un porcentaje medio de la fracción inorgánica del 73% en Cádiz y del 80% en Huelva.

Se ha estudiado la influencia estacional y espacial que pueda presentar la especiación de As en la fracción disuelta en las aguas de la Bahía de Cádiz. Como ya se explicó al abordar este estudio en la Ría de Huelva solo es necesario una de las fracciones para la realización de este estudio. Previamente, se ha comprobado la normalidad de la distribución y homogeneidad de la varianza. En este caso la especiación de As inorgánico es una distribución normal y homogénea respecto a las campañas de muestreo y a los puntos de muestreo, por lo que se ha empleado el análisis paramétrico de las varianzas (ANOVA).

No se ha observado una tendencia estacional en la especiación de As disuelto, como tampoco se ha observado que existan diferencias significativas entre los dos puntos de muestreo estudiados en la Bahía de Cádiz (**Tabla III.67 y III.68**), coincidiendo con los resultados obtenidos en Huelva.

**TABLA III.67.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional de la especiación de As disuelto en las aguas en la Bahía de Cádiz (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| FRACCIÓN                    | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F    | SIG.  |
|-----------------------------|---------------------------------|----|---------------------|------|-------|
| As % fracción<br>inorgánica | 404,9                           | 1  | 404,9               | 1,83 | 0,234 |

**TABLA III.68.** *Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial de la especiación de As disuelto en las aguas en la Bahía de Cádiz (nivel de significación  $p < 0,05$ ).*

| FRACCIÓN                    | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F    | SIG.  |
|-----------------------------|---------------------------------|----|---------------------|------|-------|
| As % fracción<br>inorgánica | 183,1                           | 1  | 183,1               | 0,69 | 0,443 |

Así mismo se ha calculado la correlación de Pearson de la fracción inorgánica de arsénico disuelto (en tanto por ciento) con los parámetros físico-químicos analizados en las aguas (**Tabla III.69**). En la Bahía de Cádiz el carbono orgánico disuelto es el único parámetro que presenta correlación con la especiación del As disuelto, con incrementos en los valores de carbono orgánico disuelto relacionados con incrementos de la fracción inorgánica disuelta.

**TABLA III.69.** *Coefficientes de la correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y la especiación de As disuelto en la Bahía de Cádiz (nivel de probabilidad  $p < 0,05$ )*

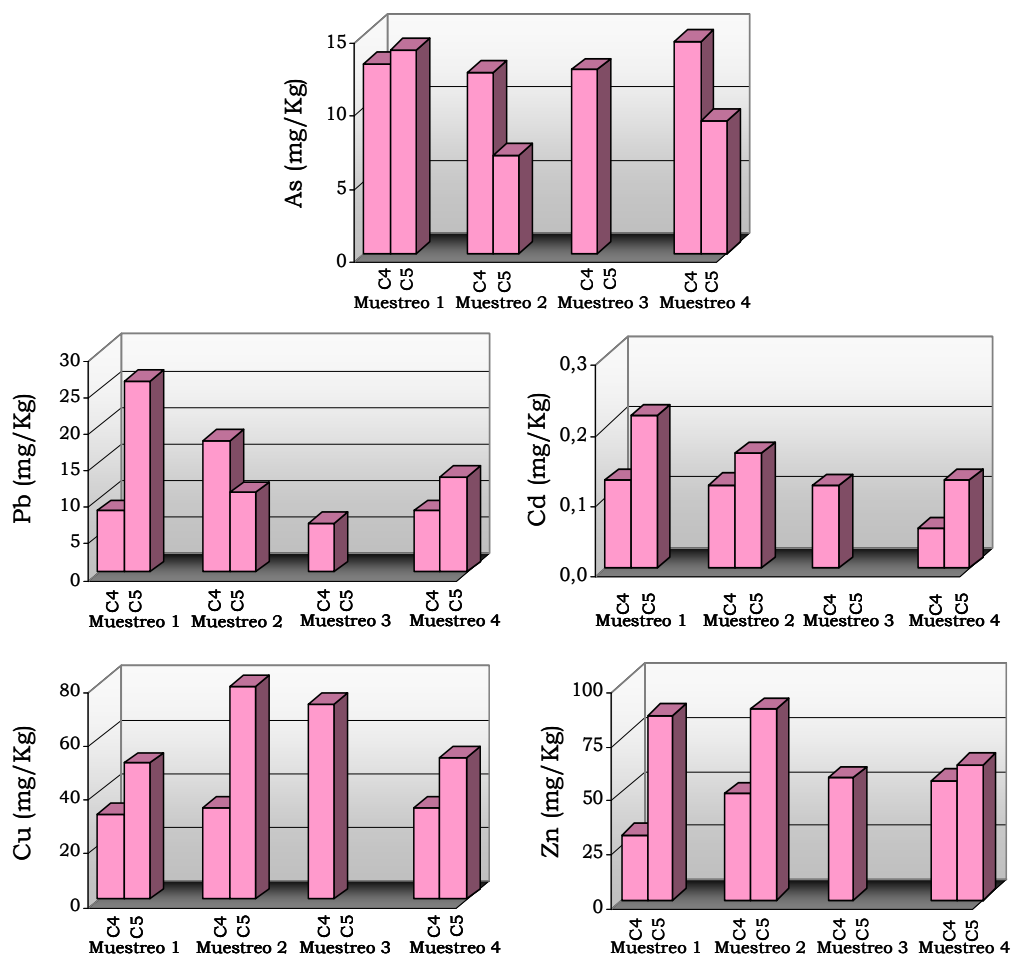
| FRACCIÓN                       | T <sup>a</sup> | pH    | O <sub>2</sub> | Salinidad | Sol.<br>Susp. | % M.O.<br>(Sol.Susp.) | COD         | % M.O.<br>sedimento |
|--------------------------------|----------------|-------|----------------|-----------|---------------|-----------------------|-------------|---------------------|
| As %<br>fracción<br>inorgánica | 0,47           | -0,31 | -0,66          | 0,03      | 0,26          | -0,47                 | <b>0,90</b> | 0,30                |

### III.3.2. CONTENIDO METÁLICO EN SEDIMENTO

#### III.3.2.1. CONCENTRACIÓN TOTAL EN SEDIMENTO

Los niveles de concentración total de los metales hallados en sedimentos de la Bahía de Cádiz se han representado en la **Figura III.42**, los cuales estuvieron dentro de los intervalos: As: 6,77–14,48 mg Kg<sup>-1</sup>; Pb: 6,69–26,31 mg Kg<sup>-1</sup>; Cd: 0,06–0,22 mg Kg<sup>-1</sup>; Cu: 31,85–79,65 mg Kg<sup>-1</sup> y Zn: 29,96–88,51 mg Kg<sup>-1</sup>. El contenido medio fue: As: 11,75 mg Kg<sup>-1</sup>; Pb: 13,12 mg Kg<sup>-1</sup>; Cd: 0,13 mg Kg<sup>-1</sup>; Cu: 50,98 mg Kg<sup>-1</sup> y Zn: 61,14 mg Kg<sup>-1</sup>; a partir de estos datos se pueden ordenar los metales de mayor a menor contenido medio en el estuario como sigue: Zn > Cu > Pb > As > Cd. Una comparación entre esta clasificación y la realizada anteriormente en la Ría de Huelva, revela un orden

semejante entre ambos ecosistemas, salvo que como se observa en los resultados los valores metálicos en la Bahía de Cádiz tienen varios órdenes de magnitud inferiores que los de la Ría de Huelva, y que el valor medio que se obtuvo para el cobre fue inferior al de cinc.



**FIGURA III.42.** Concentración total de As, Cd, Pb, Cu y Zn en sedimentos en las estaciones de la Bahía de Cádiz, para cada campaña de muestreo.

Entre los metales estudiados se pueden distinguir varios casos en función de los puntos de muestreo seleccionados. Los valores de Zn, Cd y Cu siempre son mayores en el punto C5 situado en el Caño de Sancti Petri a su paso por la localidad de San Fernando, los valores de Pb presentan máximos

en ambos puntos de muestreo, mientras que los valores de As suelen ser más elevados en el punto C4, situado en el estero de los Desamparados.

Para estudiar la influencia estacional y espacial de los valores de concentración total de los metales en los sedimentos, se ha realizado el análisis de la varianza (ANOVA) ya que son distribuciones normales y homogéneas. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla III.70** y la **Tabla III.71**.

**TABLA III.70.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional en los niveles de metales en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de significación  $p<0,05$** ).

| METALES | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F     | SIG.  |
|---------|---------------------------------|----|---------------------|-------|-------|
| As      | 10,407                          | 1  | 10,407              | 1,442 | 0,284 |
| Pb      | 2,466                           | 1  | 2,466               | 0,043 | 0,844 |
| Cd      | 0,002                           | 1  | 0,002               | 0,971 | 0,370 |
| Cu      | 4,420                           | 1  | 4,420               | 0,010 | 0,925 |
| Zn      | 75,140                          | 1  | 75,140              | 0,154 | 0,711 |

GL – grados de libertad

SIG – significación estadística

**TABLA III.71.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto espacial en los niveles de metales en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de significación  $p<0,05$** ).

| METALES | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL       | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F            | SIG.         |
|---------|---------------------------------|----------|---------------------|--------------|--------------|
| As      | 17,36                           | 1        | 17,36               | 2,978        | 0,145        |
| Pb      | 69,75                           | 1        | 69,75               | 1,595        | 0,262        |
| Cd      | 0,01                            | 1        | 0,01                | 4,888        | 0,078        |
| Cu      | 553,34                          | 1        | 553,34              | 1,641        | 0,256        |
| Zn      | <b>1669,62</b>                  | <b>1</b> | <b>1669,62</b>      | <b>9,822</b> | <b>0,026</b> |

GL – grados de libertad

SIG – significación estadística

En estas tablas se observa que no existen diferencias significativas entre los muestreos de otoño y primavera, coincidiendo con lo observado en la

Ría de Huelva. Tampoco se observan diferencias significativas para la contaminación metálica de los sedimentos entre los puntos de muestreo estudiados para la mayoría de los metales, excepto para el Zn, que presenta niveles significativamente superiores en la estación C5 a los registrados en C4.

A semejanza de los estudios efectuados en la Ría de Huelva, se han estudiado las posibles correlaciones entre los parámetros físico-químicos y parámetros generales con los niveles totales de los metales en los sedimentos, realizando la correlación lineal paramétrica de Pearson (**TABLA III.72**). En la Bahía de Cádiz se han obtenido muy pocas correlaciones en comparación con las observadas en Huelva: Cd está correlacionado de manera negativa con el contenido de carbono orgánico disuelto, y Zn está correlacionado positivamente con el pH. La única similitud que se encuentra entre ambos sistemas, Cádiz y Huelva, es la correlación que se establece entre Cd y COD. Hay que indicar, que el contenido de As y Pb en los sedimentos de la Bahía no presenta ninguna correlación con los parámetros estudiados, mientras que en Huelva su contenido se relacionaba con parámetros como la temperatura y el carbono orgánico disuelto, además de con el pH en el caso del As; esto parece indicar que el paso de estos metales de la columna de agua a los sedimentos en la Bahía de Cádiz es independiente de las características físico-químicas evaluadas en el sistema, diferenciándose del comportamiento observado en Huelva .

A diferencia de lo observado en la Ría de Huelva, donde el contenido de todos los metales estudiados en los sedimentos están estrechamente correlacionados entre sí, en los sedimentos de la Bahía de Cádiz no se han hallado correlaciones entre los metales, tal y como se observa en la **TABLA III.73**, en la que se ha representado los coeficientes de correlación de Pearson para la concentración total de los metales en sedimento. Parece, por tanto, que puede descartarse en este caso una geoquímica común significativa para estos metales

**TABLA III.72.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los parámetros físico-químicos y parámetros generales con los niveles totales de metales en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (nivel de probabilidad  $p<0,05$ ).

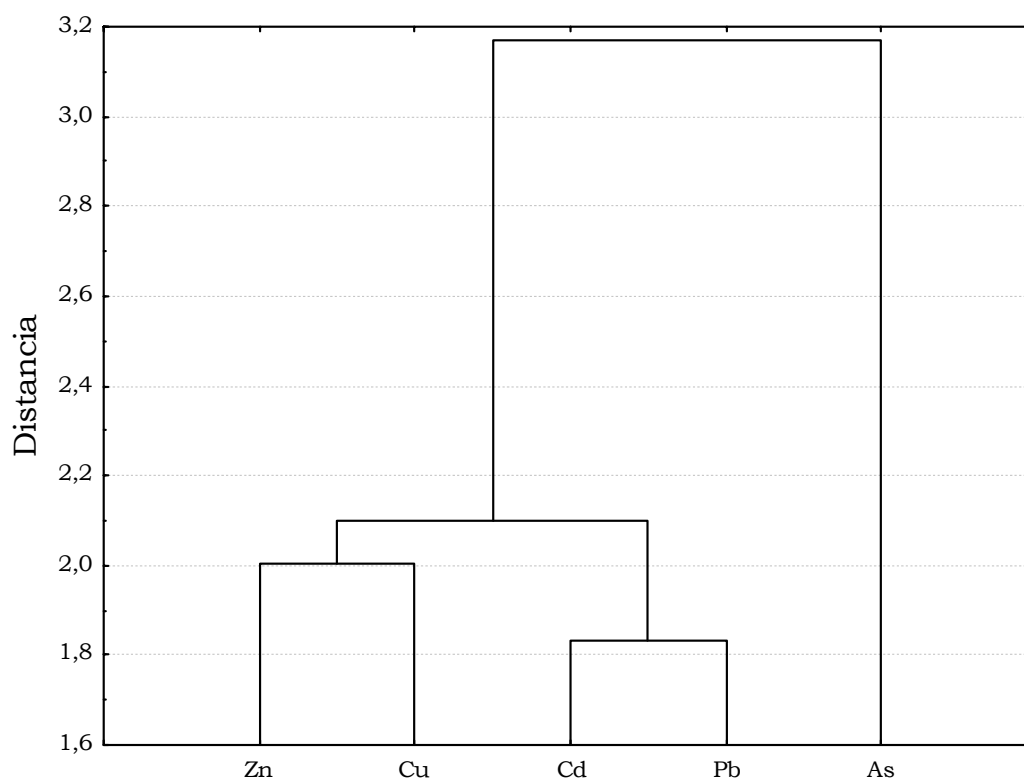
| PARÁMETRO          | As    | Pb    | Cd           | Cu    | Zn          |
|--------------------|-------|-------|--------------|-------|-------------|
| T <sup>a</sup>     | -0,66 | -0,63 | -0,38        | 0,15  | -0,33       |
| pH                 | -0,01 | 0,45  | 0,44         | 0,4   | <b>0,86</b> |
| O <sub>2</sub>     | 0,21  | 0,44  | 0,64         | 0,46  | 0,65        |
| Salinidad          | 0,14  | -0,15 | -0,46        | -0,1  | -0,33       |
| Sol. Susp.         | -0,60 | 0,13  | 0,57         | 0,50  | 0,47        |
| % M.O. (Sol.Susp.) | -0,49 | -0,01 | 0,38         | 0,39  | 0,47        |
| COD                | 0,06  | -0,7  | <b>-0,78</b> | -0,28 | -0,55       |
| % M.O. sedimento   | 0,25  | 0,37  | -0,16        | -0,48 | 0,24        |

**TABLA III.73.** Coeficientes de la correlación lineal de Pearson entre los niveles totales de metales en los sedimentos de la Ría de Huelva (nivel de probabilidad  $p<0,05$ ).

|    |       |       |      |      |    |
|----|-------|-------|------|------|----|
| As | 1     |       |      |      |    |
| Pb | 0,16  | 1     |      |      |    |
| Cd | -0,23 | 0,72  | 1    |      |    |
| Cu | -0,66 | -0,15 | 0,39 | 1    |    |
| Zn | -0,45 | 0,48  | 0,63 | 0,66 | 1  |
|    | As    | Pb    | Cd   | Cu   | Zn |

En la **FIGURA III.43** se ha representado por último el análisis de conglomerados o análisis cluster correspondiente al contenido metálico total en los sedimentos. En ella se observa que se establecen dos grupos claramente diferenciados, un grupo formado por los niveles de Zn y Cu y otro grupo formado por Cd y Pb, quedando el As aislado del resto de metales. Existen similitudes y diferencias entre éste análisis y el realizado en la Ría de Huelva. En primer lugar Zn y Cu son metales que aparecen muy próximos y agrupados en ambos sistemas y por otro lado el Pb aparece íntimamente ligado a Cd en la Bahía de Cádiz. Es de destacar la diferencia significativa ( $\approx 3,0$ ) encontrada entre As y resto de los grupos ( $\approx 3,0$ ). En este caso, se vuelve a mostrar gracias al análisis cluster la relación existente entre metales que

muestran un alto coeficiente de correlación pero cuyo grado de correlación ( $\approx 0,1$ ) no es suficiente para haberse observado en los estudios de correlación de Pearson.



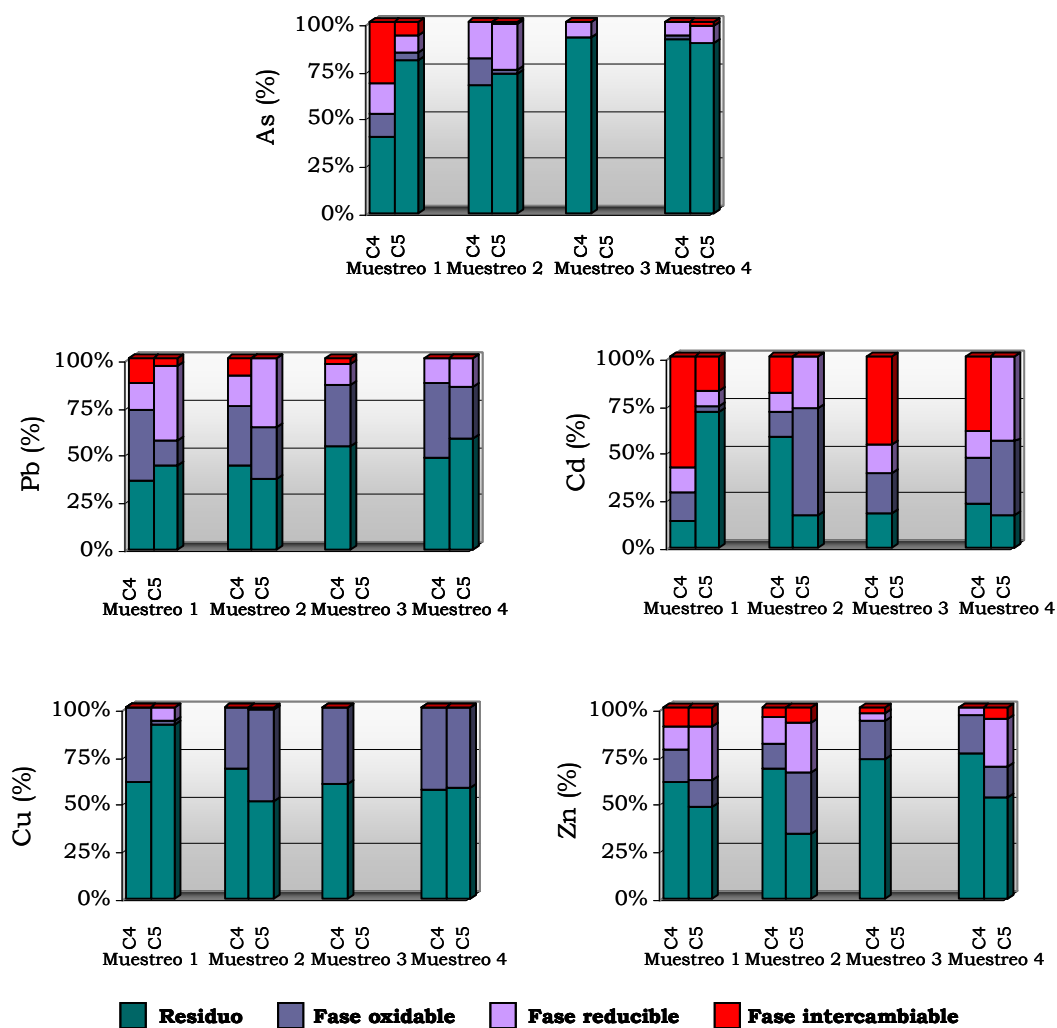
**FIGURA III.43.** Dendrograma de las concentraciones de As, Cd, Pb, Cu y Zn en los sedimentos de las estaciones de la Ría de Huelva.

### III.3.2.2. ESPECIACIÓN METÁLICA EN LOS SEDIMENTOS

La distribución en los sedimentos (en porcentaje) obtenida para los metales siguiendo el procedimiento del BCR se muestra en la **FIGURA III.44**.

El Cd se muestra como el metal más móvil, al igual que se observó en Huelva. La movilidad es mayor en la estación C4 en la que el Cd está presente mayoritariamente en la fase intercambiable (19,2–60%); en el punto de

muestreo C5 el Cd aparece mayoritariamente en la fase oxidable (3,3%-56,2%) y en menor medida en la fase reducible (8,2%-44,5%). El Cd asociado a la fase residual es minoritario en todos los casos excepto para la estación C4 en el primer muestreo y la C5 en el segundo muestreo, en las que se ha observado que el Cd residual es mayoritario.



**FIGURA III.44.** Porcentaje de As, Pb, Cd, Cu y Zn en cada fase del esquema de extracción en sedimentos en las estaciones de la Bahía de Cádiz.



El Zn se encuentra mayoritariamente en la fase residual (34,1%-75,7%), el resto del Zn contenido en las fases de extracción secuencial aparece principalmente en la fase oxidable y reducible, siendo la fase intercambiable la minoritaria en todos los casos. En este caso presenta un comportamiento opuesto al observado en Huelva, donde aparecía enlazado principalmente a la fracción más lábil.

La especiación de Pb es muy similar a la observada en el caso del Zn, siendo la fase residual la mayoritaria (35,6%-58%), distribuyéndose el resto del Pb principalmente entre las fases oxidable y reducible, mientras que la fase intercambiable es la minoritaria, coincidiendo con lo observado en los sedimentos de Huelva.

El Cu y el As son los metales en los que se observa una mayor proporción de fracción residual (51,2%-91,5% y 39,6%-91,8% respectivamente), por lo que tienen una menor movilidad entre los sedimentos y la columna de agua. El resto del Cu de los sedimentos aparece asociado a la fracción oxidable, debido probablemente a la facilidad que tiene el Cu para formar complejos con los compuestos orgánicos, tal y como se ha indicado anteriormente, mientras que el As aparece asociado tanto a la fase reducible como a la fase intercambiable.

De acuerdo con estos resultados obtenidos la disponibilidad de los metales en los sedimentos sigue el siguiente orden:  $Cd > Pb > Zn > As > Cu$ . Al comparar este orden con la disponibilidad encontrada en las aguas de Cádiz, se observan diferencias sobre todo para los metales As y Zn que son los más disponibles en agua, así como Cd, que en agua es el metal menos disponible. Esto podría indicar que la presencia de estos metales disueltos no es debida a la movilización desde los sedimentos. Así mismo, existen diferencias entre los sistemas estudiados, en general los metales están menos disponibles en los sedimentos de Cádiz que en los de Huelva, además se observan ordenes de disponibilidad diferentes, esto se debe principalmente a que metales como Zn, Cd y Cu presentan un comportamiento geoquímico diferente en los sedimentos de Cádiz y Huelva. Este comportamiento se observa en un aumento del contenido de estos metales en fracción residual y una disminución de su contenido en la fracción soluble o intercambiable en los sedimentos de Cádiz respecto a los de Huelva.

Continuando con los análisis realizados a los valores de concentración obtenidos, se realizó el estudio de la influencia estacional y espacial de la especiación de los sedimentos, aplicando tanto análisis no paramétricos de comparación (Kruskal-Wallis), cuando ha sido necesario por la naturaleza de los datos, como análisis paramétricos (ANOVA), tras realizar transformaciones logarítmicas en los casos que así lo han requerido. Los resultados de estos análisis se muestran de la **TABLA III.74** a la **TABLA III.77**. A partir de estos resultados se alcanzan las siguientes conclusiones: la especiación de los metales en los sedimentos permanece prácticamente constante durante todos los muestreos que se han realizado, pero se observan diferencias entre los dos puntos de muestreo estudiados para las fases intercambiable de Cd, fase oxidable de Pb y la fase residual de Zn, para las cuales se observa un porcentaje medio más elevado en C4 que en C5; además se observan diferencias para la fase reducible de Zn cuyo porcentaje medio es mayor en el punto C5.

**TABLA III.74.** Análisis de la varianza (ANOVA) del efecto estacional sobre la especiación de los metales en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (nivel de significación  $p < 0,05$ ).

| FRACCIONES                           | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL | MEDIA<br>CUADRATICA | F     | SIG.  |
|--------------------------------------|---------------------------------|----|---------------------|-------|-------|
| As % fracción reducible              | 21,97                           | 1  | 21,97               | 0,462 | 0,527 |
| As % fracción residual               | 152,89                          | 1  | 152,89              | 0,392 | 0,559 |
| Pb % fracción intercambiable         | 30,14                           | 1  | 30,14               | 1,210 | 0,322 |
| Pb % fracción oxidable               | 19,67                           | 1  | 19,67               | 0,222 | 0,657 |
| Pb % fracción residual               | 8,63                            | 1  | 8,63                | 0,106 | 0,758 |
| Cd % fracción intercambiable         | 1150,76                         | 1  | 1150,76             | 3,000 | 0,144 |
| Cd % fracción reducible <sup>1</sup> | 0,08                            | 1  | 0,08                | 1,558 | 0,267 |
| Cd % fracción oxidable               | 684,74                          | 1  | 684,74              | 2,863 | 0,151 |
| Cd % fracción residual               | 57,40                           | 1  | 57,40               | 0,090 | 0,777 |
| Cu % fracción residual <sup>1</sup>  | 0,01                            | 1  | 0,01                | 1,747 | 0,243 |
| Zn % fracción intercambiable         | 14,56                           | 1  | 14,56               | 1,085 | 0,345 |
| Zn % fracción reducible              | 9,22                            | 1  | 9,22                | 0,073 | 0,797 |
| Zn % fracción oxidable               | 16,84                           | 1  | 16,84               | 0,371 | 0,569 |
| Zn % fracción residual               | 11,05                           | 1  | 11,05               | 0,041 | 0,847 |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

**TABLA III.75.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto estacional sobre la especiación de metales en sedimentos de la Bahía de Cádiz (grado de libertad 1, 7 casos y **nivel de significación  $p<0,05$** ).

| FRACCIONES                   | H      | SIG.  |
|------------------------------|--------|-------|
| As % fracción intercambiable | 0,18   | 0,527 |
| As % fracción oxidable       | 0,14   | 0,658 |
| Pb % fracción reducible      | 361,34 | 0,673 |
| Cu % fracción intercambiable | 0,00   | 0,987 |
| Cu % fracción reducible      | 359,09 | 0,590 |
| Cu % fracción oxidable       | 447,10 | 0,281 |

**TABLA III.76.** Análisis de la varianza (ANOVA) entre los puntos de muestreo para la especiación de los metales en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de significación  $p<0,05$** ).

| FRACCIONES                           | TIPO VI<br>SUMA DE<br>CUADRADOS | GL       | MEDIA<br>CUADRÁTICA | F             | SIG.         |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------|---------------------|---------------|--------------|
| As % fracción reducible              | 3,11                            | 1        | 3,11                | 0,061         | 0,815        |
| As % fracción residual               | 128,73                          | 1        | 128,73              | 0,326         | 0,593        |
| Pb % fracción oxidable               | <b>278,62</b>                   | <b>1</b> | <b>278,62</b>       | <b>7,591</b>  | <b>0,040</b> |
| Pb % fracción residual               | 0,68                            | 1        | 0,68                | 0,008         | 0,931        |
| Cd % fracción intercambiable         | <b>2073,10</b>                  | <b>1</b> | <b>2073,10</b>      | <b>10,412</b> | <b>0,023</b> |
| Cd % fracción reducible <sup>1</sup> | 0,08                            | 1        | 0,08                | 1,407         | 0,289        |
| Cd % fracción oxidable               | 364,94                          | 1        | 364,94              | 1,204         | 0,323        |
| Cd % fracción residual               | 76,06                           | 1        | 76,06               | 0,119         | 0,744        |
| Zn % fracción intercambiable         | 22,13                           | 1        | 22,13               | 1,859         | 0,231        |
| Zn % fracción oxidable               | 15,25                           | 1        | 15,25               | 0,333         | 0,589        |
| Zn % fracción residual               | <b>1022,13</b>                  | <b>1</b> | <b>1022,13</b>      | <b>15,678</b> | <b>0,011</b> |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

**TABLA III.77.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) entre los puntos de muestreo para la especiación de metales en sedimentos de la Bahía de Cádiz (grado de libertad 1, 7 casos y **nivel de significación**  $p<0,05$ ).

| FRACCIONES                   | H          | SIG.          |
|------------------------------|------------|---------------|
| As % fracción intercambiable | 0,795      | 0,373         |
| As % fracción oxidable       | 0,032      | 0,858         |
| Pb % fracción intercambiable | 2,036      | 0,1536        |
| Pb % fracción reducible      | 0,125      | 0,724         |
| Cu % fracción intercambiable | 0,750      | 0,387         |
| Cu % fracción reducible      | 1,333      | 0,248         |
| Cu % fracción oxidable       | 0,125      | 0,7237        |
| Cu % fracción residual       | 0,125      | 0,7237        |
| Zn % fracción reducible      | <b>4,5</b> | <b>0,0339</b> |

A continuación se ha estudiado si los parámetros físico-químicos tienen alguna influencia sobre la especiación de los metales en los sedimentos de la Bahía de Cádiz. Con este objetivo, se han calculado los coeficientes y grado de correlación lineal paramétrico (Pearson) y no paramétrico (Spearman) (esto último, para aquellas fases que no cumplen las condiciones de normalidad).

Para la especiación de As en los sedimentos solo se observan dos correlaciones significativas con los parámetros físico-químicos y generales (**TABLA III.78**): correlación negativa entre la salinidad y la fase intercambiable y entre el contenido de sólidos en suspensión y la fase residual. Estas correlaciones difieren de la observada en Huelva, donde la especiación de As en los sedimentos estaba influenciada en gran medida por el carbono orgánico disuelto.

**TABLA III.78.** Coeficientes de la correlación de Pearson (paramétrico) y de Spearman (no paramétrico) entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de As en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p<0,05$** ).

| PARÁMETRO             | % fracción intercambiable<br>(paramétrico) | % fracción reducible<br>(no paramétrico) | % fracción oxidable<br>(paramétrico) | % fracción residual<br>(no paramétrico) |
|-----------------------|--|--|--------------------------------------|---|
| T <sup>a</sup>        | 0,31                                       | 0,64                                     | 0,11                                 | -0,35                                   |
| pH                    | -0,15                                      | -0,33                                    | -0,29                                | 0,62                                    |
| O <sub>2</sub>        | -0,11                                      | -0,38                                    | -0,45                                | 0,39                                    |
| Salinidad             | <b>-0,85</b>                               | 0,14                                     | -0,05                                | 0,12                                    |
| Sol. Susp.            | 0,13                                       | 0,14                                     | -0,34                                | <b>-0,77</b>                            |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,09                                       | 0,68                                     | 0,20                                 | -0,60                                   |
| COD                   | -0,14                                      | -0,43                                    | -0,49                                | 0,16                                    |
| % M.O.<br>sedimento   | -0,12                                      | -0,15                                    | 0,14                                 | 0,23                                    |

**TABLA III.79.** Coeficientes de la correlación de Pearson (paramétrico) y de Spearman (no paramétrico) entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Pb en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p<0,05$** ).

| PARÁMETRO             | % fracción intercambiable<br>(paramétrico) | % fracción reducible<br>(paramétrico) | % fracción oxidable<br>(no paramétrico) | % fracción residual<br>(paramétrico) |
|-----------------------|--|---------------------------------------|---|--------------------------------------|
| T <sup>a</sup>        | 0,11                                       | 0,07                                  | 0,57                                    | -0,15                                |
| pH                    | -0,69                                      | 0,42                                  | -0,65                                   | 0,11                                 |
| O <sub>2</sub>        | -0,32                                      | 0,14                                  | -0,70                                   | 0,05                                 |
| Salinidad             | 0,14                                       | -0,43                                 | 0,36                                    | 0,22                                 |
| Sol. Susp.            | 0,73                                       | -0,64                                 | 0,46                                    | -0,40                                |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | -0,09                                      | 0,69                                  | -0,47                                   | -0,73                                |
| COD                   | -0,17                                      | -0,68                                 | 0,69                                    | 0,47                                 |
| % M.O.<br>sedimento   | -0,28                                      | 0,37                                  | -0,07                                   | -0,08                                |

No se han hallado correlaciones entre las fases de especiación de Pb en los sedimentos y los parámetros físico-químicos y generales, coincidiendo con lo observado para la especiación de Pb en agua, para la que apenas se encontraron correlaciones con los parámetros estudiados. Sin embargo, existen diferencias con la especiación de Pb en los sedimentos en Huelva, donde la salinidad influía en el paso de Pb de la fracción residual a la fracción reducible y el carbono orgánico disuelto influía en el paso de Pb de la fracción residual a la fracción oxidable.

Al igual que ocurre con el Pb, no se han encontrado correlaciones entre las fases de especiación en los sedimentos y los parámetros estudiados para Cd (**Tabla III.80**). El hecho que Cd sea el metal para el que se establecen más correlaciones entre sus fases de especiación en agua y los parámetros estudiados indica un comportamiento diferente en agua y sedimento, de modo que su movilización de los sedimentos a la columna de agua no depende de las condiciones del sistema, las cuales sí influyen en el tipo de especie disuelta en la que se encuentra el Cd en las aguas. También se diferencia de la especiación de Cd en los sedimentos de Huelva, donde para todas las fases de la especiación se establecían correlaciones con algunos de los parámetros físico-químicos o generales.

**TABLA III.80.** Coeficientes de la correlación de Pearson (paramétrico) entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cd en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO          | % fracción intercambiable | % fracción reducible <sup>1</sup> | % fracción oxidable | % fracción residual |
|--------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>     | -0,11                     | 0,59                              | 0,68                | -0,68               |
| pH                 | -0,42                     | -0,03                             | 0,08                | 0,35                |
| O <sub>2</sub>     | -0,04                     | -0,31                             | -0,27               | 0,40                |
| Salinidad          | 0,12                      | -0,25                             | -0,14               | 0,15                |
| Sol. Susp.         | 0,68                      | -0,09                             | -0,21               | -0,43               |
| % M.O. (Sol.Susp.) | -0,34                     | 0,01                              | 0,42                | 0,04                |
| COD                | 0,30                      | 0,52                              | 0,22                | -0,73               |
| % M.O. sedimento   | -0,35                     | -0,23                             | -0,06               | 0,39                |

<sup>1</sup> variable transformada logarítmicamente ( $\log(x+1)$ )

**TABLA III.81.** Coeficientes de la correlación de Pearson (paramétrico) y de Spearman (no paramétrico) entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Cu en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO             | % fracción intercambiable<br>(no paramétrico) | % fracción reducible<br>(no paramétrico) | % fracción oxidable<br>(no paramétrico) | % fracción residual<br>(paramétrico) |
|-----------------------|---|--|---|--------------------------------------|
| T <sup>a</sup>        | 0,61  | -0,61                                    | 0,46                                    | <b>-0,83</b>                         |
| pH                    | 0,31  | 0,62                                     | 0,18                                    | 0,34                                 |
| O <sub>2</sub>        | 0,20  | 0,61                                     | 0,04                                    | 0,58                                 |
| Salinidad             | 0,00  | -0,61                                    | 0,21                                    | -0,12                                |
| Sol. Susp.            | 0,00  | -0,61                                    | 0,32                                    | -0,14                                |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,61  | 0,41                                     | -0,21                                   | -0,06                                |
| COD                   | -0,41   | -0,61                                    | 0,39                                    | -0,59                                |
| % M.O.<br>sedimento   | -0,13   | 0,39                                     | -0,14                                   | 0,16                                 |

**TABLA III.82.** Coeficientes de la correlación de Pearson (paramétrico) entre los parámetros físico-químicos y las fases correspondientes a la especiación de Zn en los sedimentos de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| PARÁMETRO             | % fracción intercambiable | % fracción reducible | % fracción oxidable | % fracción residual |
|-----------------------|---------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| T <sup>a</sup>        | -0,05                     | -0,10                | 0,44                | -0,10               |
| pH                    | 0,00                      | 0,42                 | 0,25                | -0,39               |
| O <sub>2</sub>        | 0,23                      | 0,27                 | 0,07                | -0,27               |
| Salinidad             | -0,59                     | -0,56                | -0,16               | 0,60                |
| Sol. Susp.            | 0,40                      | -0,25                | -0,13               | 0,13                |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,58                      | 0,50                 | 0,63                | <b>-0,75</b>        |
| COD                   | -0,50                     | -0,48                | -0,04               | 0,47                |
| % M.O.<br>sedimento   | -0,25                     | 0,17                 | -0,13               | 0,01                |

En el caso del Cu solo se observa correlación negativa entre la fase residual y la temperatura, coincidiendo con lo observado tanto en aguas como en la especiación de sedimentos en Huelva para los que no se encontraron correlaciones con los parámetros físico-químicos y generales.

Por último, el Zn correlaciona con el porcentaje de la materia orgánica en los sólidos en suspensión, al igual que en los sedimentos de Huelva. Sin embargo, se diferencia de lo observado tanto en agua, donde se encontraron correlaciones para la fracción lábil orgánica y la fracción poco lábil inorgánica, como de lo observado en los sedimentos de Huelva, donde además se establecían correlación entre la fracción residual con el oxígeno disuelto en las aguas.

### III.3.3. CONTENIDO METÁLICO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

---

El contenido medio de los metales estudiados en los tejidos de branquia, hígado y músculo se muestra en la **TABLA III.83**, diferenciando entre dorada y lenguado. Al igual que se ha descrito en los peces de Huelva, las mayores concentraciones metálicas se observan para cinc y cobre en los tejidos de hígado, distinguiéndose entre las especies ya que el valor medio más alto de cinc se observa para hígado de doradas, mientras que el mayor valor medio de Cu se observa en hígado de lenguado. También son altas concentraciones de As en todos los tejidos, aunque son mayores en los tejidos de músculo de ambas especies. Por tanto, a partir de los valores medios de la **Tabla III.83** se pueden establecer los siguientes ordenes de acumulación: Zn > As > Cu > Pb > Cd en los tejidos de branquias para ambas especies, Zn > Cu > As > Pb > Cd para hígado de doradas Zn > As > Cu > Cd > Pb para hígado de lenguado, mientras que en los tejidos de músculo el orden de acumulación es Zn > As > Cu > Pb > Cd en doradas y As > Zn > Cu > Pb > Cd en lenguados. En general los niveles de concentración encontrados en los peces de la Bahía de Cádiz son inferiores a los observados en la Ría de Huelva, excepto para la acumulación de As, que fue mayor para las muestras de Cádiz.



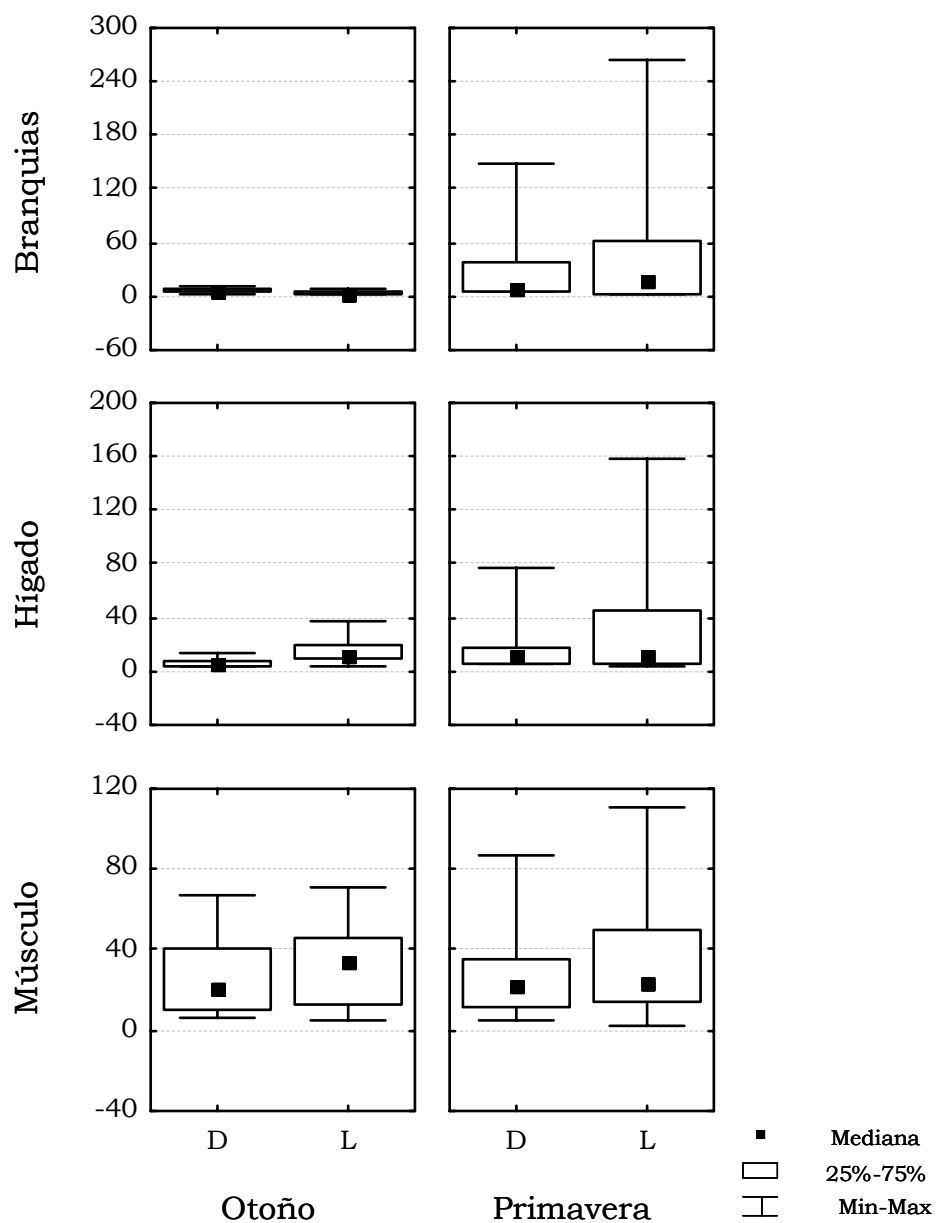
**TABLA III.83.** Concentraciones metálicas medias en tejidos de *Sparus aurata* (dorada) y *Solea senegalensis* (lenguado) de la Ría de Huelva ( $\text{mg Kg}^{-1}$  peso seco).

| PEZ      | TEJIDO   | As    | Pb   | Cd   | Cu     | Zn     |
|----------|----------|-------|------|------|--------|--------|
| Dorada   | Branquia | 13,88 | 0,77 | 0,01 | 1,83   | 79,24  |
|          | Hígado   | 11,00 | 0,23 | 0,12 | 29,31  | 145,72 |
|          | Músculo  | 26,80 | 0,11 | 0,02 | 0,95   | 34,71  |
| Lenguado | Branquia | 24,88 | 0,39 | 0,03 | 22,88  | 76,18  |
|          | Hígado   | 21,53 | 0,14 | 0,26 | 196,86 | 80,83  |
|          | Músculo  | 34,43 | 0,06 | 0,04 | 0,83   | 32,67  |

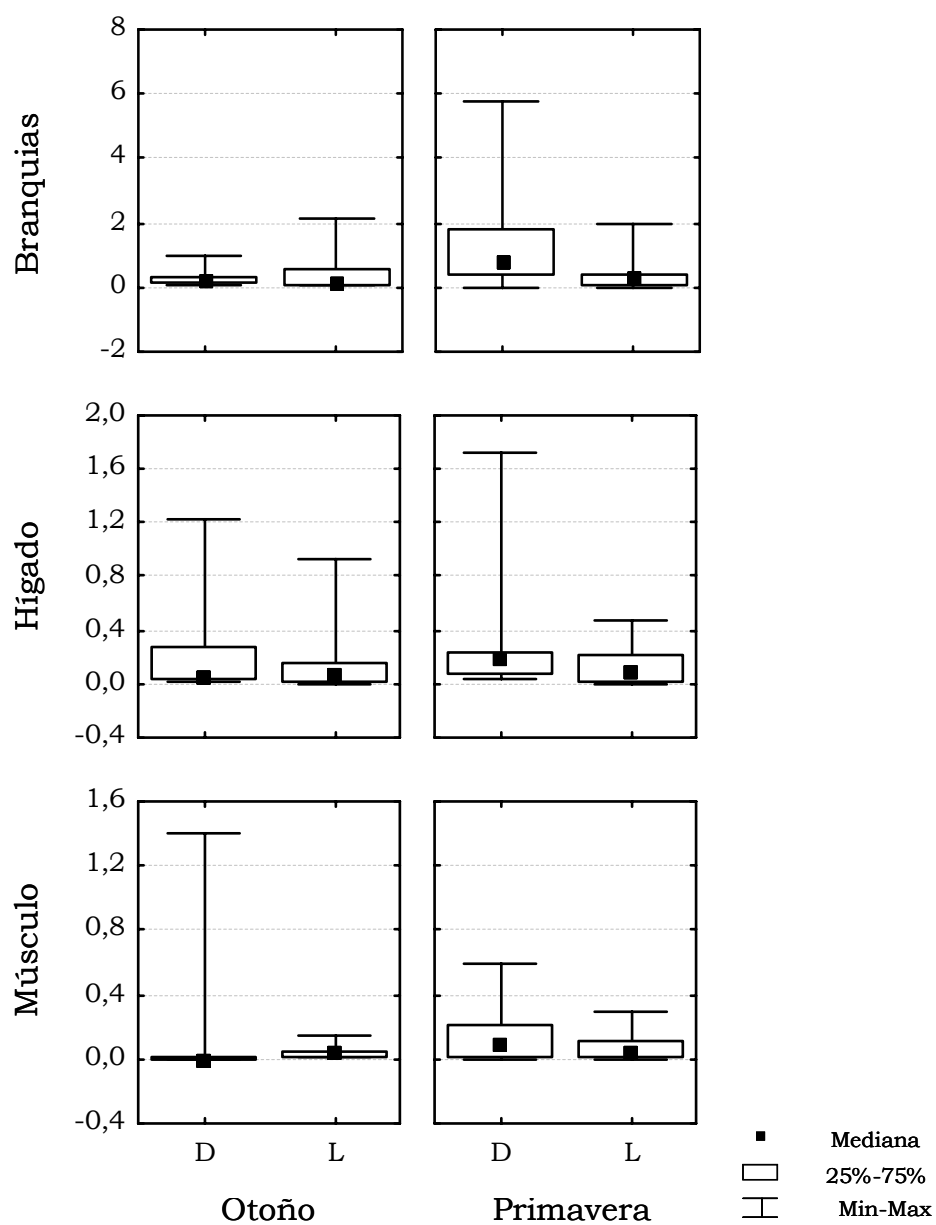
Tal y como se ha realizado en Huelva, los resultados de acumulación metálica obtenidos se han representado gráficamente como caja de *Box-Whisker*, en las cuales se muestra la tendencia central que viene representada por la mediana, mientras que la dispersión de los resultados (variabilidad) está representada por los cuartiles (25% y 75%) y el valor mínimo y máximo de la variable. Se han realizado dos tipos de gráficas, uno primero en el que se representan los valores metálicos por pez y tejidos agrupados según sean los muestreos de otoño o primavera (**Figura III.45** a **Figura III.49**); y en el segundo tipo se han representado los valores metálicos comparando los distintos puntos de muestreo (**Figura III.50** a **Figura III.54**).

Para el As, al igual que ocurría en Huelva, se observan los valores más altos en branquias e hígados de lenguados, y en general la tendencia central, que viene dada por la mediana y los cuartiles 25 y 75%, son similares en ambas especies. En Cádiz se observan, de manera mas clara que en Huelva, unos valores más altos de As en primavera que en otoño, sobre todo para los tejidos hígado y branquias en doradas y lenguados.

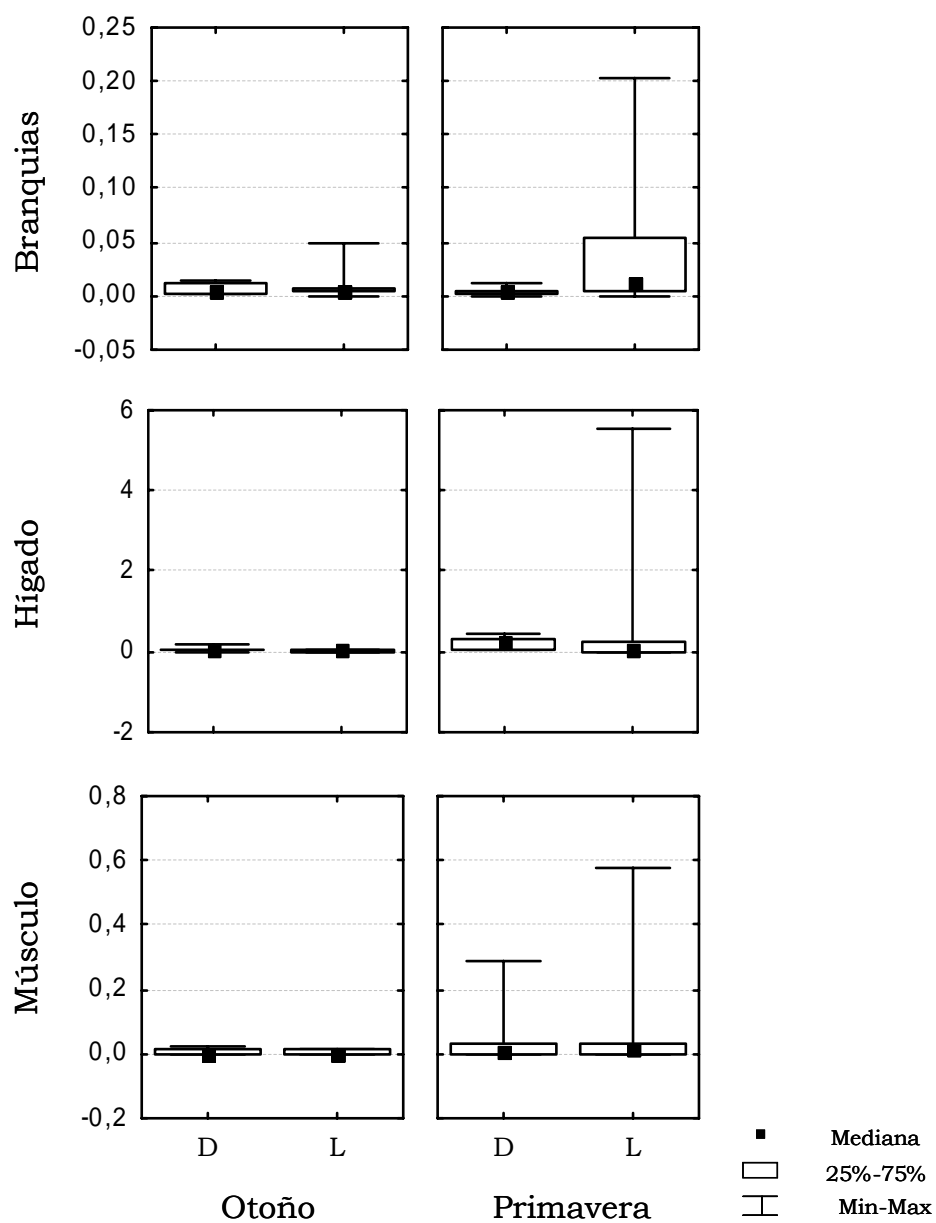
Los niveles de Pb en los peces de Cádiz son más bajos que los observados en Huelva, aunque los mayores niveles de Pb se siguen observando en algunas muestras de branquias, en concreto en doradas. Así mismo, los valores más altos en hígado también se observan en algunas muestras de doradas. Aunque hay que indicar que la tendencia central de los niveles de Pb es en todos los tejidos estudiados similar para ambas especies.



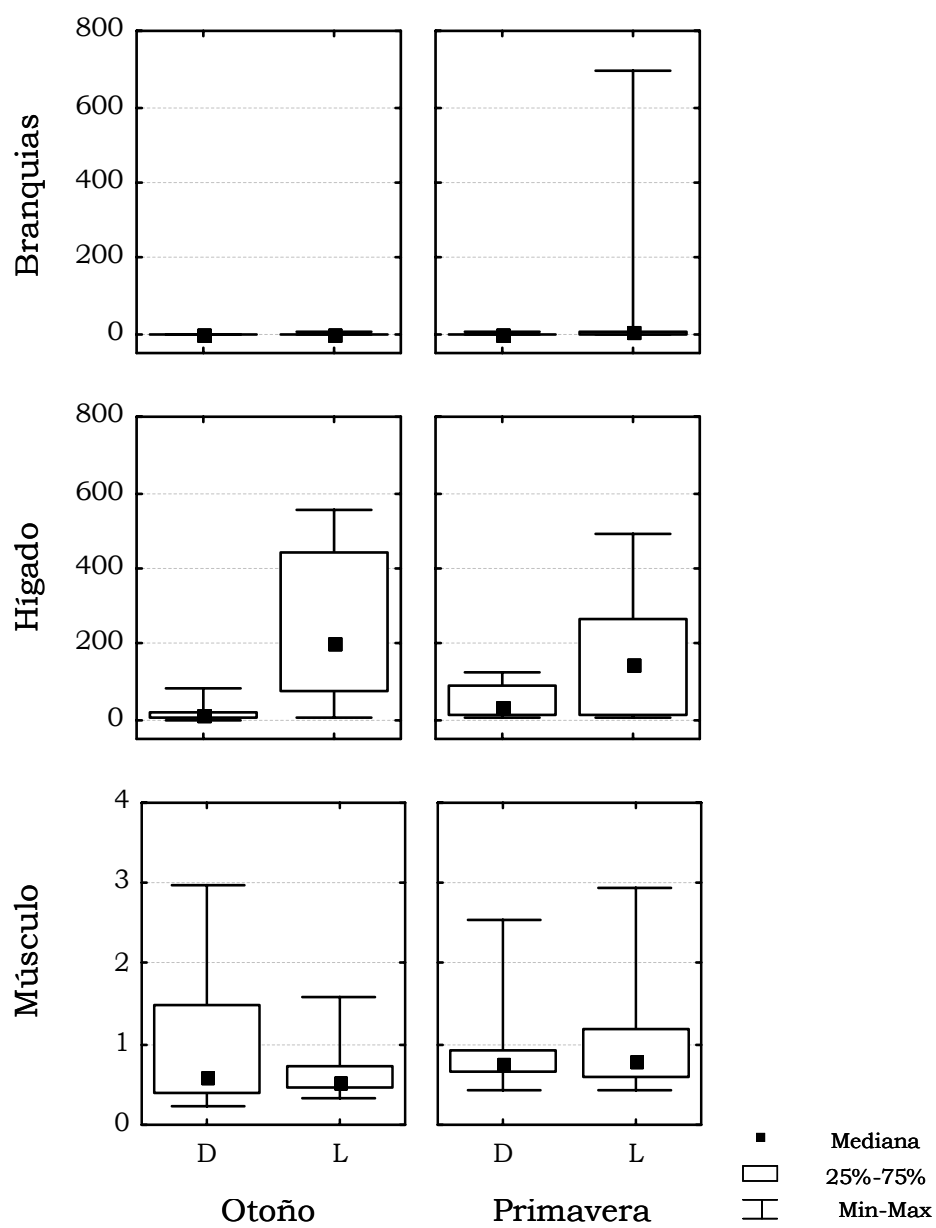
**FIGURA III.45.** Caja de Box- Whisker de As (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para las estaciones de otoño y primavera.



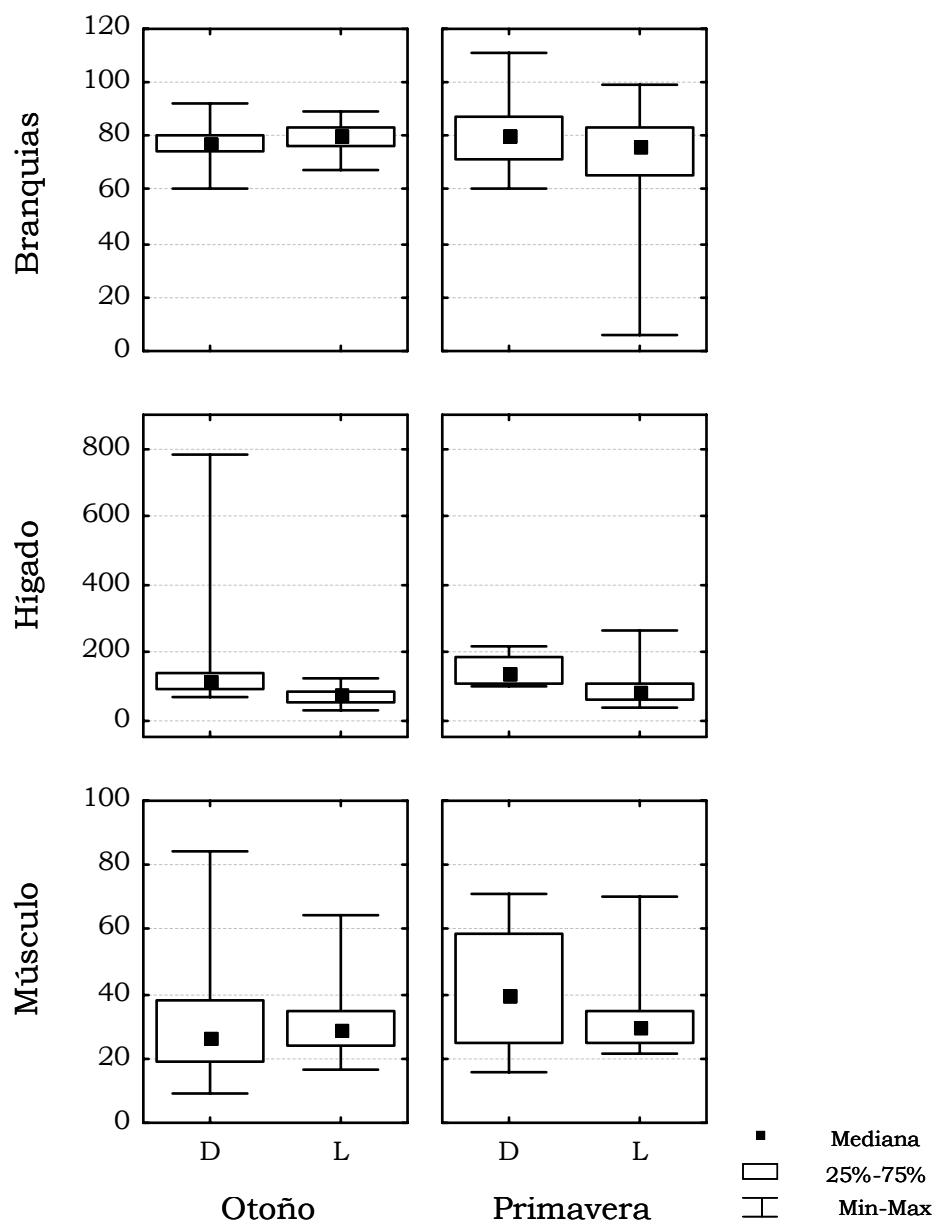
**FIGURA III.46.** Caja de Box- Whisker de Pb (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para las estaciones de otoño y primavera.



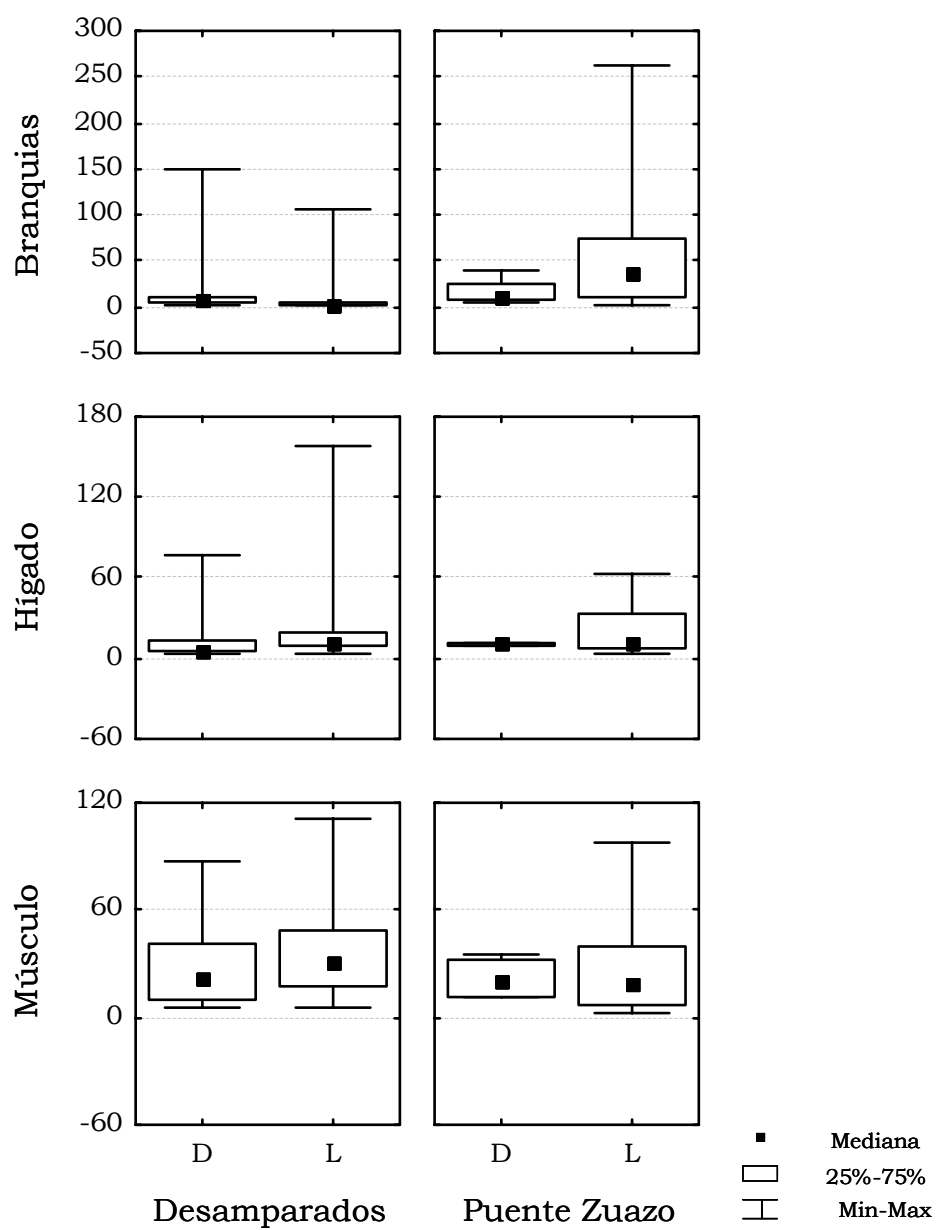
**FIGURA III.47.** Caja de Box- Whisker de Cd (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para las estaciones de otoño y primavera.



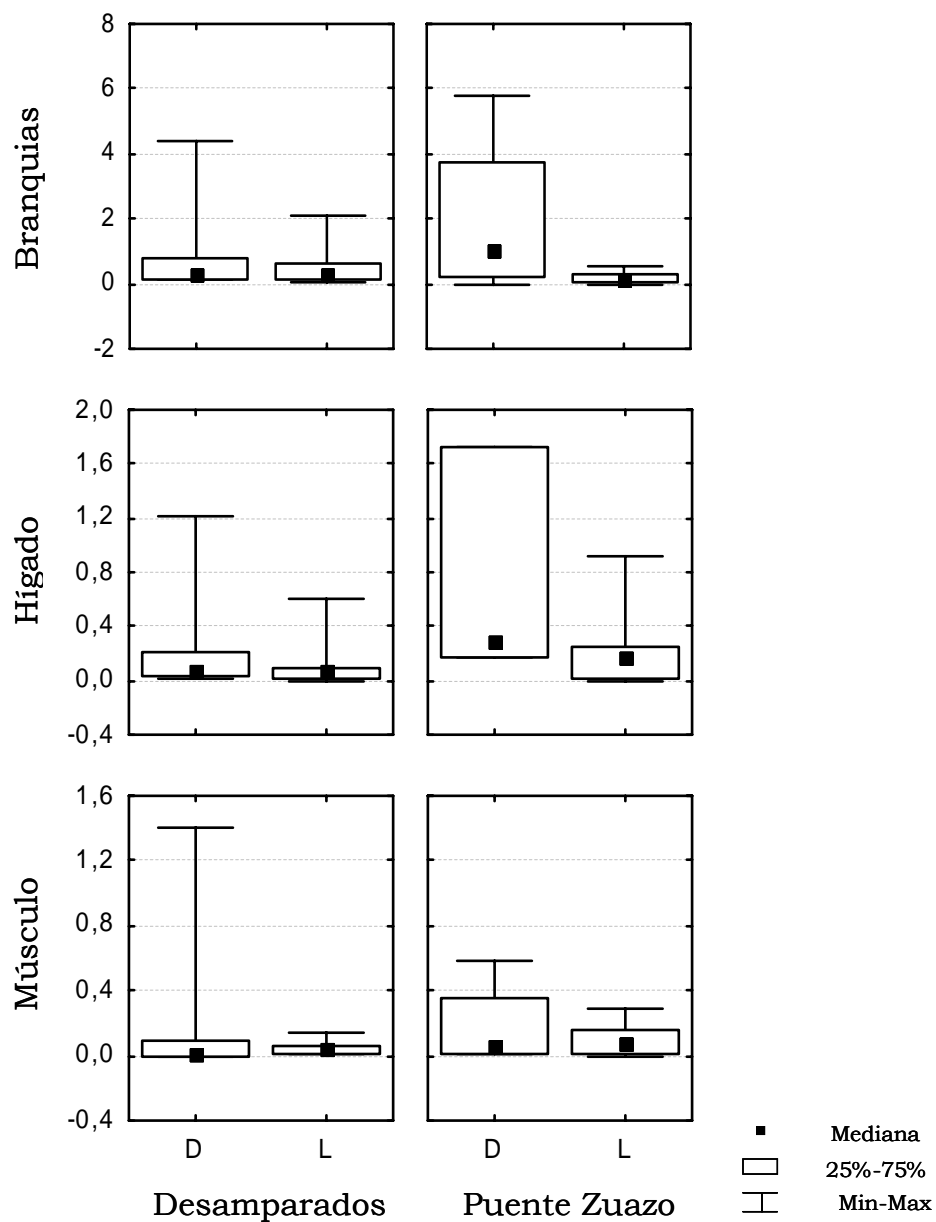
**FIGURA III.48.** Caja de Box-Whisker de Cu (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para las estaciones de otoño y primavera.



**FIGURA III.49.** Caja de Box-Whisker de Zn (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para las estaciones de otoño y primavera.

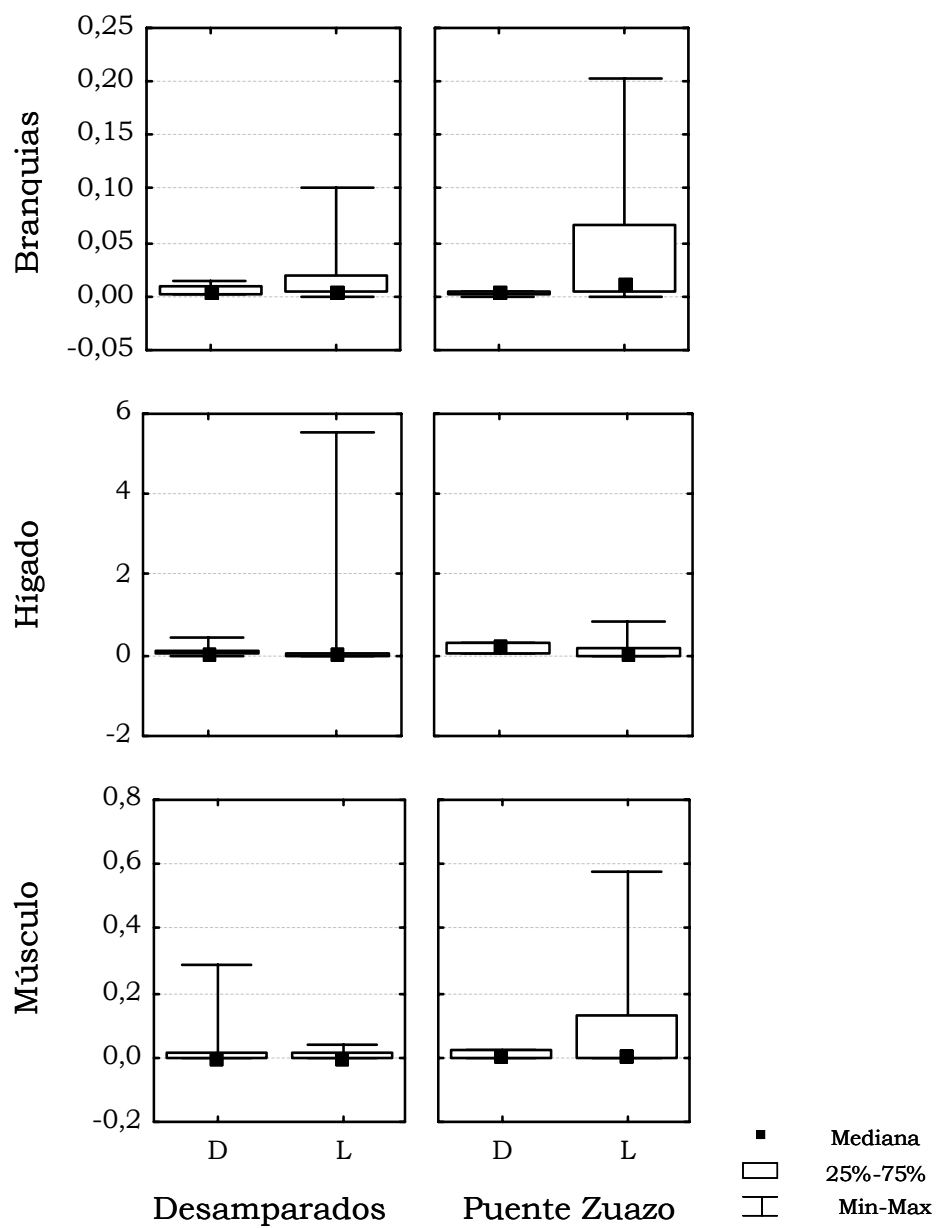


**FIGURA III.50.** Caja de Box-Whisker de As (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para los puntos de muestreo Desamparados y Puente Zuazo.

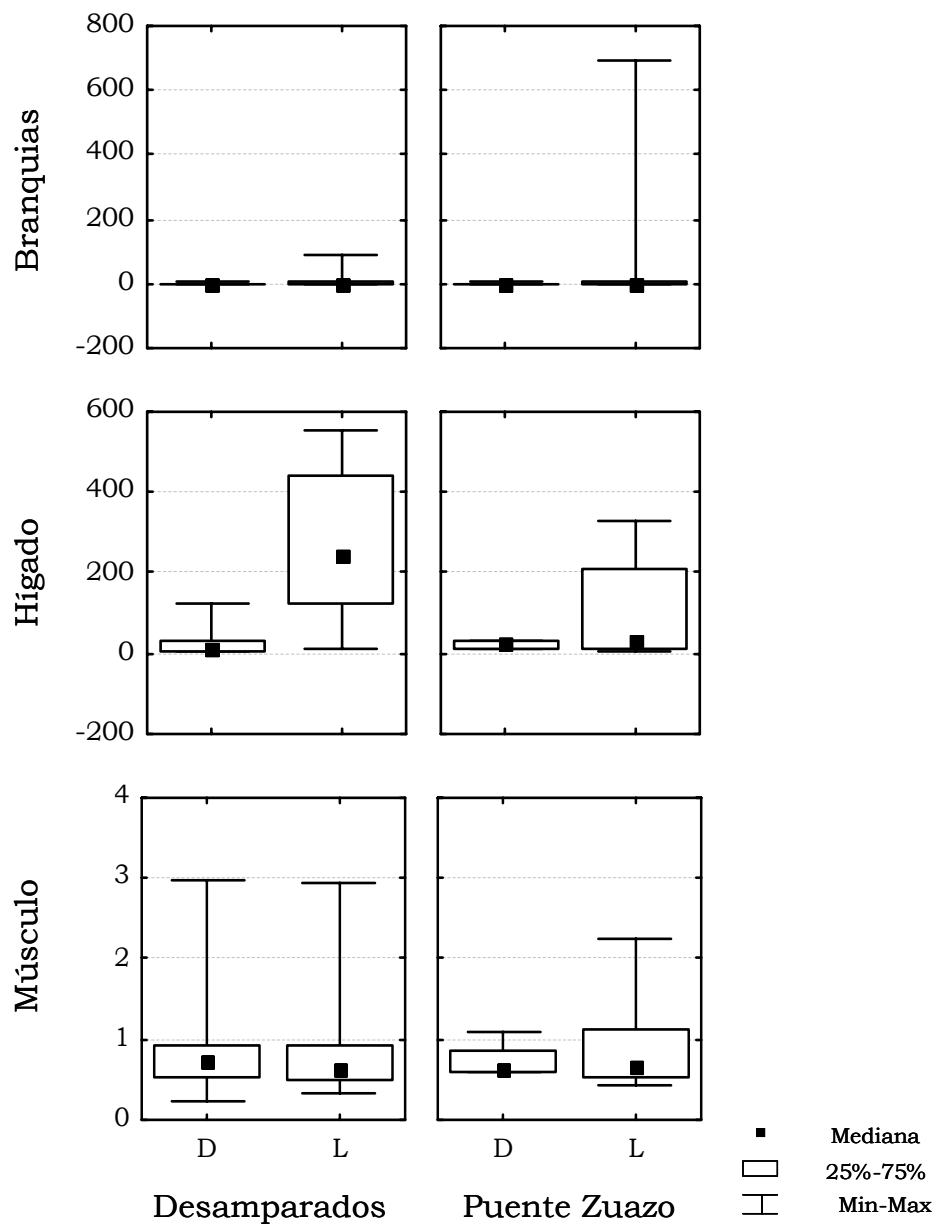


**FIGURA III.51.** Caja de Box-Whisker de Pb (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para los puntos de muestreo Desamparados y Puente Zuazo.

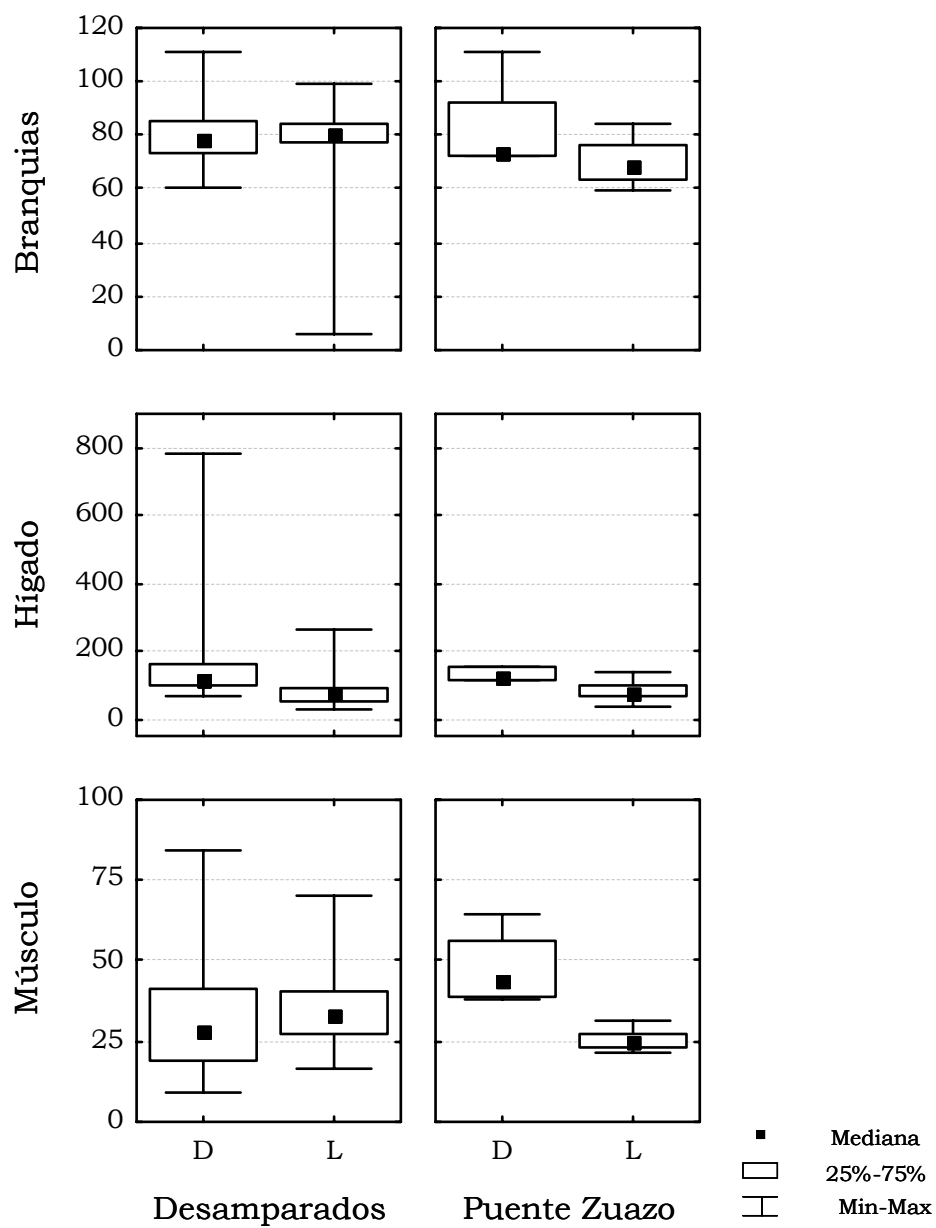




**FIGURA III.52.** Caja de Box-Whisker de Cd (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para los puntos de muestreo Desamparados y Puente Zuazo.



**FIGURA III.53.** Caja de Box-Whisker de Cu (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para los puntos de muestreo Desamparados y Puente Zuazo.



**FIGURA III.54.** Caja de Box-Whisker de Zn (mg/kg) en doradas (D) y lenguados (L) de la Bahía de Cádiz, para los puntos de muestreo Desamparados y Puente Zuazo.

Al igual que ocurre en el caso del Pb, los niveles de Cd en peces son menores en Cádiz que en Huelva, siendo en general muy bajos para todos los tejidos aunque en hígado los valores medios sean mayores debido a alguna muestra extrema. Así mismo, se vuelven a observar los niveles más altos en las doradas, aunque tal y como pasaba en Huelva, la tendencia central de Cd sea similar para ambas especies.

En general los niveles de Cu en los tejidos de los peces de Cádiz son inferiores a los observados en Huelva, aunque se ha observado un valor extremo de Cu muy elevado en branquias de lenguados en el punto del Puente Zuazo. El orden de acumulación de Cu en los tejidos coincide para ambas especies con el observado en Huelva, este es Hígado > branquias > músculo como se deduce de la **Tabla III.83**. Es en los niveles de Cu hígado cuando se observan las mayores diferencias tanto entre las especies como entre los puntos de muestreo. De hecho, los niveles de Cu en hígado son mayores en lenguados que en doradas, para todos los muestreos, además los niveles de Cu en hígado de lenguados son mayores en peces capturados en el estero de los Desamparados que aquellos capturados en el Puente Zuazo.

En el caso del Zn se mantiene el orden de acumulación en los tejidos observados en Huelva para todas las especies: hígado > branquias > músculo. También, y al igual que en Huelva, se observan mayores niveles de Zn en hígado de doradas que en lenguados. No se observan en la **Figura III.49** diferencias en el contenido de Zn en función de los muestreos, así como tampoco se observan diferencias apreciables entre los puntos de muestreo, sin embargo es reseñable que si se observan diferencias entre las especies, las cuales son más evidentes en el punto de muestreo del puente Zuazo, así las doradas muestran en este punto mayor concentración de Zn que los lenguados.

A continuación, y al igual que se ha realizado anteriormente en el estudio de la Ría de Huelva, se han estudiado las posibles diferencias entre las especies para la acumulación de los distintos metales. Para ello, y dado que los datos de concentración metálica en los tejidos no se ajustan a una distribución normal, se ha realizado el análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrico) (**Tabla III.84**). Este estudio revela que los valores de acumulación de As, Pb y Cd en peces no muestran diferencias estadísticamente significativas entre las dos especies estudiadas. Sin embargo, la acumulación de Cu y Zn en los tejidos de doradas y lenguados es

estadísticamente diferentes, confirmando de este modo las observaciones que se han realizado anteriormente para ambos metales. Si se compara estos resultados con los obtenidos en Huelva, las conclusiones alcanzadas para As, Pb y Zn son las mismas en los dos sistemas, sin embargo difieren para Cd y Cu.

**TABLA III.84.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) de la diferencia entre especies (dorada y lenguado) de la Bahía de Cádiz (grado de libertad 1, 242 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| METAL | H            | SIG.         |
|-------|--------------|--------------|
| As    | 1,797        | 0,180        |
| Pb    | 2,236        | 0,135        |
| Cd    | 0,010        | 0,922        |
| Cu    | <b>5,339</b> | <b>0,021</b> |
| Zn    | <b>7,765</b> | <b>0,005</b> |

En el caso de aquellos metales para los que no existen diferencias entre las especies, se han agrupado todas las concentraciones metálicas, independientemente del tipo de pez capturado, y se ha analizado la posibilidad de encontrar influencias estacionales, espaciales o entre los tejidos. Para ello se han aplicado los correspondientes análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrico), dado que como se ha indicado anteriormente estos datos no se ajustan a una distribución normal (**Tabla III.85**). De este modo, se ha encontrado que solo los niveles de As en peces muestran influencia espacial, y como se ve en la **Figura III.50**, estas diferencias se aprecian en branquias, que presentan una tendencia central más alta en el punto de muestreo C5. También se ha determinado que los tres metales estudiados presentan influencia estacional en sus valores, siendo la acumulación en peces de todos ellos mayor en primavera que en otoño. Como se ha indicado en los capítulos anteriores, no se ha encontrado influencia estacional en los niveles ni en la especiación de estos metales en las aguas ni en los sedimentos, también hay que recordar que solo en el caso de As se encontró influencia estacional en los peces de Huelva, por lo que para este metal se podría relacionar esta influencia estacional con la biología de los peces. Así mismo, se ha encontrado que los tres metales estudiados presentan diferencias significativas en la acumulación de los mismos en los distintos tejidos estudiados. Para discernir

entre cuales de los tejidos se establecen estas diferencias se ha empleado el análisis de comparación múltiple.

**TABLA III.85.** *Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) de la diferencia estacional, espacial y entre tejidos en la acumulación de As, Pb y Cd en peces de la Bahía de Cádiz (grado de libertad de 1,1 y 2, respectivamente, 242 casos y nivel de significación  $p < 0,05$ ).*

| METAL | Influencia estacional |       | Influencia espacial |       | Influencia tejidos |      |
|-------|-----------------------|-------|---------------------|-------|--------------------|------|
|       | H                     | SIG.  | H                   | SIG.  | H                  | SIG. |
| As    | 16,054                | 0     | 6,354               | 0,012 | 50,034             | 0    |
| Pb    | 6,779                 | 0,009 | 0,210               | 0,647 | 77,921             | 0    |
| Cd    | 3,944                 | 0,047 | 0,184               | 0,668 | 84,595             | 0    |

**TABLA III.86.** *Análisis de Comparación Múltiple de medias de dos colas para la acumulación de As, Pb y Cd con respecto a los tejidos, branquias, hígado, músculo (nivel de significación  $p < 0,05$ ).*

| METAL | TEJIDO  | p         |        |
|-------|---------|-----------|--------|
|       |         | Branquias | Hígado |
| As    | Hígado  | 0,066     |        |
|       | Músculo | 0         | 0      |
| Pb    | Hígado  | 0         |        |
|       | Músculo | 0         | 0      |
| Cd    | Hígado  | 0         |        |
|       | Músculo | 0,691     | 0      |

La **Tabla III.86** muestra las siguientes diferencias significativas en la concentración de As, Pb y Cd entre los distintos tejidos de los peces de la Bahía: la acumulación de As presenta diferencias entre los tejidos branquias y músculo y entre hígado y músculo; los niveles de concentración de Pb muestran diferencias entre todos los tejidos y por último, la acumulación de Cd muestran diferencias entre branquias e hígado y entre hígado y músculo. Todas estas diferencias se observan igualmente al calcular la media y la desviación estándar de estos metales para cada tejido (**Tabla III.87**). Así, se observa que los niveles medios de As en músculo son mayores que los encontrados para branquias e hígado, los cuales son muy parecidos entre si. Los niveles medios de Pb en los tejidos difieren unos de otros, observándose la media más alta en las branquias mientras que la más baja se ha encontrado para músculo. Por último, la concentración media más alta de Cd se obtiene

para hígado, mientras que los valores medios en branquias y músculo son muy inferiores y parecidos entre si.

**TABLA III.87.** Media y desviación estándar de As, Pb y Cd ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) en peces de la Bahía de Cádiz.

| TEJIDOS   | As    |       | Pb    |      | Cd    |      |
|-----------|-------|-------|-------|------|-------|------|
|           | MEDIA | D.E.  | MEDIA | D.E. | MEDIA | D.E. |
| Branquias | 19,04 | 38,70 | 0,59  | 0,92 | 0,02  | 0,03 |
| Hígado    | 16,33 | 21,85 | 0,19  | 0,28 | 0,19  | 0,66 |
| Músculo   | 30,42 | 23,65 | 0,08  | 0,19 | 0,03  | 0,10 |

Para aquellos metales que se han descrito diferencias entre las especies, se ha estudiado las posibles influencias estacionales, espaciales y entre los tejidos de forma independiente para cada pez, utilizando para ello el análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) (distribuciones no normales). Los resultados obtenidos de estos estudios se muestran en la **Tabla III.88**.

**TABLA III.88.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) de la diferencia estacional, espacial y entre tejidos en la acumulación de Cu y Zn en doradas y lenguados de la Bahía de Cádiz (grado de libertad de 1, 1 y 2, respectivamente, 125 y 117 casos (doradas y lenguados) y **nivel de significación**  $p < 0,05$ ).

| PEZ | METAL | Influencia estacional |       | Influencia espacial |       | Influencia tejidos |          |
|-----|-------|-----------------------|-------|---------------------|-------|--------------------|----------|
|     |       | H                     | SIG.  | H                   | SIG.  | H                  | SIG.     |
| D   | Cu    | 1,181                 | 0,277 | 0,149               | 0,903 | <b>96,406</b>      | <b>0</b> |
|     | Zn    | 0,487                 | 0,485 | 0,037               | 0,848 | <b>99,760</b>      | <b>0</b> |
| L   | Cu    | 0,190                 | 0,663 | 0,111               | 0,739 | <b>93,761</b>      | <b>0</b> |
|     | Zn    | 0,004                 | 0,952 | 0,877               | 0,349 | <b>62,339</b>      | <b>0</b> |

No se han hallado diferencias estadísticas en la acumulación de Cu y Zn entre los peces capturados en otoño con los capturados en primavera, como tampoco se han encontrado diferencias estadísticas entre los peces capturados en el punto de muestreo C4 o los capturados en el punto C5, para ninguna de las dos especies estudiadas. Con respecto a las diferencias en la acumulación entre los tejidos se han encontrado diferencias para estos dos

metales en doradas y lenguados. A continuación se ha estudiado entre que tejidos se establecen estas diferencias, para lo cual se ha aplicado el análisis de comparación múltiple entre tejidos (**Tabla III.89**).

**TABLA III.89.** Análisis de Comparación Múltiple de Medias de dos colas para la acumulación de Cu y Zn con respecto a los tejidos branquias, hígado y músculo en doradas y lenguado (*nivel de significación  $p < 0,05$* ).

| PEZ | METAL | TEJIDO  | p         |        |
|-----|-------|---------|-----------|--------|
|     |       |         | Branquias | Hígado |
| D   | Cu    | Hígado  | 0         |        |
|     |       | Músculo | 0         | 0      |
|     | Zn    | Hígado  | 0         |        |
|     |       | Músculo | 0         | 0      |
| L   | Cu    | Hígado  | 0         |        |
|     |       | Músculo | 0         | 0      |
|     | Zn    | Hígado  | 1         |        |
|     |       | Músculo | 0         | 0      |

Para estos dos metales, Cu y Zn, existen diferentes pautas de acumulación en función de los tejidos, excepto para el metal Zn entre branquia e hígado. Únicamente para estos dos tejidos se encontraron concentraciones parecidas. Observando los valores medios y la desviación estándar de estos metales en todos los tejidos pueden verse estas tendencias: Con estos valores se puede ordenar la acumulación de Cu en los tejidos para las dos especies como sigue: hígado > branquias > músculo. Este mismo orden es el que se establece para Zn en ambas especies, pero en el caso de los lenguados los valores de Zn en hígado son menores que en doradas y similares a los valores hallados para branquias.



**TABLA III.90.** Media y desviación estándar de Cd y Zn ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) en los tejidos de doradas y lenguados de la Ría de Huelva.

| PEZ | TEJIDO    | Cu     |        | Zn     |        |
|-----|-----------|--------|--------|--------|--------|
|     |           | MEDIA  | D.E.   | MEDIA  | D.E.   |
| D   | Branquias | 1,83   | 0,47   | 79,24  | 10,82  |
|     | Hígado    | 29,31  | 31,81  | 145,72 | 110,59 |
|     | Músculo   | 0,95   | 0,67   | 34,71  | 18,06  |
| L   | Branquias | 22,88  | 112,37 | 76,18  | 15,35  |
|     | Hígado    | 196,86 | 170,54 | 80,83  | 39,50  |
|     | Músculo   | 0,83   | 0,53   | 32,67  | 12,82  |

Una vez estudiadas las posibles influencias espaciales, estacionales y de los tejidos en la acumulación de los metales en peces, se ha estudiado la posible relación entre estos niveles de metales. Al igual que en Huelva, se ha estudiado la correlación entre los metales para cada especie, así como la correlación entre los metales para cada tejido analizado.

En la **TABLA III.91** y la **TABLA III.92** se muestran los coeficientes de correlación entre el contenido metálico en doradas y lenguados respectivamente, observándose correlaciones similares a las halladas para los peces capturados en la Ría de Huelva. Para los lenguados se establecen correlaciones positivas significativas entre los metales Pb, Cd, Cu y Zn, siendo la correlación más importante la que se establece entre Cu y Zn, lo cual coincide con lo observado para este pez en la Ría de Huelva. En el caso de las doradas se observan las mismas correlaciones que para los lenguados, pero con diferencias, ya que no existe correlación entre Pb y Cd, mientras que se observan correlaciones negativas de As con Cd, Pb y Cu, aunque hay que indicar, que las correlaciones encontradas para As tienen unos coeficientes de correlación bajos.

**TABLA III.91.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en doradas de la Bahía de Cádiz (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |              |             |             |             |    |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1            |             |             |             |    |
| Pb | -0,06        | 1           |             |             |    |
| Cd | <b>-0,31</b> | 0,16        | 1           |             |    |
| Cu | <b>-0,30</b> | <b>0,34</b> | <b>0,71</b> | 1           |    |
| Zn | <b>-0,31</b> | <b>0,45</b> | <b>0,61</b> | <b>0,84</b> | 1  |
|    | As           | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

**TABLA III.92.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en lenguados de la Bahía de Cádiz (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |       |             |             |             |    |
|----|-------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1     |             |             |             |    |
| Pb | -0,04 | 1           |             |             |    |
| Cd | 0,11  | <b>0,43</b> | 1           |             |    |
| Cu | 0,06  | <b>0,29</b> | <b>0,55</b> | 1           |    |
| Zn | -0,05 | <b>0,48</b> | <b>0,43</b> | <b>0,75</b> | 1  |
|    | As    | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

La correlación entre los metales para cada uno de los tejidos de dorada se muestra en las **TABLA III.93**, **TABLA III.94** y **TABLA III.95**. En hígado y músculo se obtienen correlaciones significativas entre todos los metales, incluyendo el As, con unos coeficientes de correlación muy elevados especialmente para el contenido en hígado. Sin embargo en las branquias se observan menos correlaciones significativas positivas destacando Cu-Pb, Zn-Pb, Cu-Cd, Zn-Cd y Zn-Cu. As correlaciona negativamente con Zn, Cd y Pb y con unos coeficientes de correlación bajos. Al comparar con los resultados obtenidos en este estudio con los de Huelva, sistema donde las concentraciones de los metales en peces eran mayores, se observan claras diferencias. Estas diferencias son evidentes para músculo, tejido para el que casi no existen correlaciones entre metales en las doradas de Huelva, aunque hay que indicar que la mayoría de las correlaciones halladas en músculo de doradas de Cádiz poseen un coeficiente de correlación menor a 0,5.

**TABLA III.93.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en hígado de doradas de la Bahía de Cádiz (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |             |             |             |             |    |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1           |             |             |             |    |
| Pb | <b>0,94</b> | 1           |             |             |    |
| Cd | <b>0,93</b> | <b>0,94</b> | 1           |             |    |
| Cu | <b>0,82</b> | <b>0,81</b> | <b>0,79</b> | 1           |    |
| Zn | <b>0,92</b> | <b>0,94</b> | <b>0,93</b> | <b>0,81</b> | 1  |
|    | As          | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

**TABLA III.94.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en branquia de doradas de la Bahía de Cádiz (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |              |             |             |             |    |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1            |             |             |             |    |
| Pb | -0,09        | 1           |             |             |    |
| Cd | <b>-0,23</b> | 0,17        | 1           |             |    |
| Cu | <b>-0,22</b> | <b>0,37</b> | <b>0,70</b> | 1           |    |
| Zn | <b>-0,24</b> | <b>0,47</b> | <b>0,61</b> | <b>0,85</b> | 1  |
|    | As           | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

**TABLA III.95.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en músculo de doradas de la Bahía de Cádiz (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

|    |             |             |             |             |    |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1           |             |             |             |    |
| Pb | <b>0,34</b> | 1           |             |             |    |
| Cd | <b>0,40</b> | <b>0,46</b> | 1           |             |    |
| Cu | <b>0,67</b> | <b>0,48</b> | <b>0,44</b> | 1           |    |
| Zn | <b>0,54</b> | <b>0,39</b> | <b>0,22</b> | <b>0,52</b> | 1  |
|    | As          | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

Las correlaciones entre metales según el tejido de lenguados se muestran en las **TABLA III.96**, **TABLA III.97** y **TABLA III.98**.

**TABLA III.96.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en hígado de lenguado de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

|    |             |             |             |             |    |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1           |             |             |             |    |
| Pb | <b>0,61</b> | 1           |             |             |    |
| Cd | <b>0,42</b> | <b>0,68</b> | 1           |             |    |
| Cu | <b>0,61</b> | <b>0,65</b> | <b>0,67</b> | 1           |    |
| Zn | <b>0,66</b> | <b>0,67</b> | <b>0,65</b> | <b>0,92</b> | 1  |
|    | As          | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

**TABLA III.97.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en branquia de lenguado de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

|    |              |             |             |             |    |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1            |             |             |             |    |
| Pb | <b>-0,22</b> | 1           |             |             |    |
| Cd | -0,02        | <b>0,34</b> | 1           |             |    |
| Cu | -0,12        | 0,17        | <b>0,49</b> | 1           |    |
| Zn | <b>-0,24</b> | <b>0,39</b> | <b>0,34</b> | <b>0,70</b> | 1  |
|    | As           | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

**TABLA III.98.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en músculo de lenguado de la Bahía de Cádiz (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

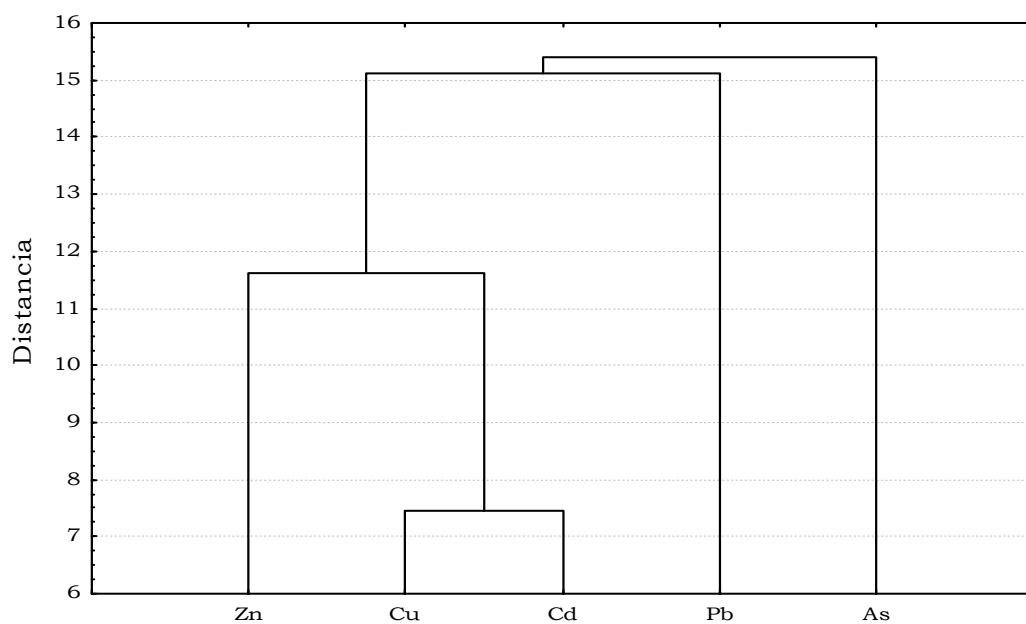
|    |             |             |             |             |    |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|----|
| As | 1           |             |             |             |    |
| Pb | <b>0,85</b> | 1           |             |             |    |
| Cd | <b>0,60</b> | <b>0,70</b> | 1           |             |    |
| Cu | <b>0,89</b> | <b>0,84</b> | <b>0,62</b> | 1           |    |
| Zn | <b>0,83</b> | <b>0,76</b> | <b>0,58</b> | <b>0,82</b> | 1  |
|    | As          | Pb          | Cd          | Cu          | Zn |

Estas correlaciones presentan algunas diferencias a las descritas en doradas. Así para hígado y músculo existen correlaciones significativas entre todos los metales, pero con unos coeficientes de correlación más altos, ahora para músculo. En branquias se observan las mismas correlaciones positivas

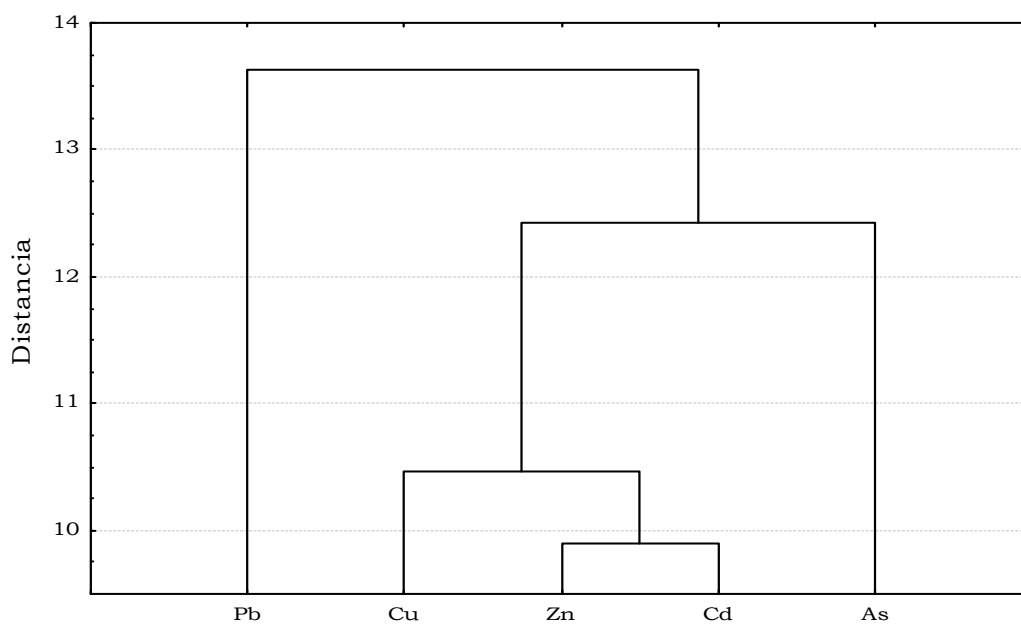
entre Zn-Pb, Zn-Cu, Zn-Cd, y Cu-Cd, pero con menores coeficientes, siendo el coeficiente más alto el observado para la correlación Zn-Cu. Además, ahora As sólo correlaciona negativamente con Pb y Zn.

A partir de estos estudios de correlación para el contenido metálico en peces, llevados a cabo en Huelva y Cádiz, se deduce que en sistemas con altos contenidos metálicos en agua, sedimento y peces, como es el caso de Huelva, se establecen diferencias entre las dos especies, así para doradas las principales correlaciones entre los metales se observan en los tejidos de hígado y branquias, mientras que para lenguados éstas se observan en músculo. Sin embargo en sistemas con bajos contenidos metálicos en aguas, sedimentos y peces no se puede distinguir entre las especies, ya que ambas presentan un gran número de correlaciones entre los metales para todos sus tejidos.

Por último se ha empleado el análisis de conglomerados para agrupar los metales en las doradas y lenguados (**FIGURA III.55** y **III.56** respectivamente). Los dendogramas obtenidos en los peces capturados en Cádiz presentan semejanzas a los descritos para los peces capturados en Huelva. Estas semejanzas son mayores en el caso de los lenguados, para los que se vuelve a observar un grupo formado por Zn y Cd, que a su vez está próximo al comportamiento del Cu, mientras que Pb y As están diferenciados por separado del resto. En las doradas se vuelve a observar el grupo formado por Cd y Cu aunque más próximos entre sí que lo observado en Huelva. En este caso no se observa el grupo Pb y As que sí aparecía en Huelva. De este modo parece ser que en situaciones de contaminación metálica diferentes, es la dorada la especie para la que se observan mayores diferencias en la similitud de sus contenidos metálicos.



**FIGURA III.55.** Dendrograma del contenido de Zn, Cd, Pb, Cu y As en doradas de la Bahía de Cádiz.



**FIGURA III.56.** Dendrograma del contenido de Zn, Cd, Pb, Cu y As en lenguados de la Bahía de Cádiz.

## CAPÍTULO IV: COMPARACIÓN DEL CONTENIDO METÁLICO





En el capítulo anterior se ha estudiado la distribución de los metales en las aguas y sedimentos, así como su acumulación en los tejidos de peces. A continuación, y con el objetivo de conocer el grado de contaminación metálica que presentan los sistemas estudiados, se han realizado estudios comparativos de los resultados obtenidos en cada uno de los compartimentos medioambientales analizados, de tres modos distintos. En primer lugar se han comparado entre sí los puntos de muestreo seleccionados para este trabajo. A continuación se ha realizado la comparación de los resultados obtenidos para cada metal con datos referenciados en la bibliografía, tanto en los mismos ecosistemas estudiados, como con otros ecosistemas de estuarios y bahías. Y por último, se han comparado los niveles metálicos con aquellos niveles de referencia o legales recogidos en la bibliografía.

#### **IV.1. COMPARACIÓN ENTRE LOS PUNTOS DE MUESTREO**

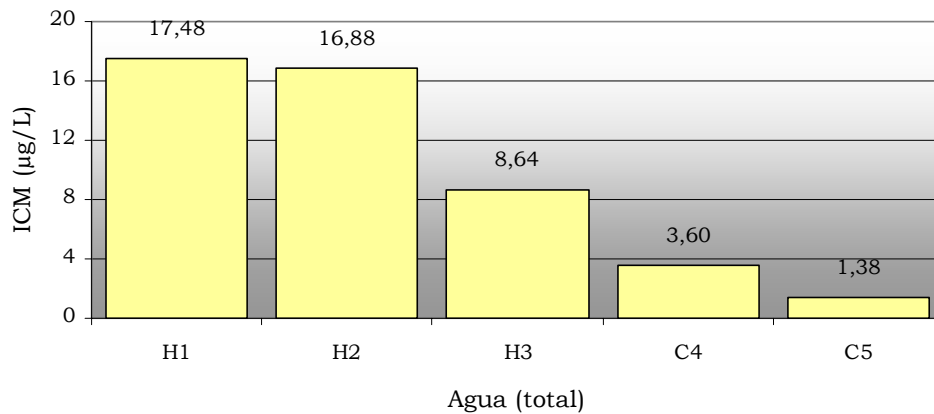
Un índice de un ecosistema es un indicador que informa acerca de las condiciones y/o características del sistema de tal manera que la información que suministre sea interpretada con facilidad. Para comparar el contenido metálico en los cinco puntos de muestreo, en agua, sedimento y tejidos de peces, se ha calculado el índice de contaminación metálica (MPI, metal pollution index), usando la siguiente ecuación [USERO y col., 1996; USERO y col., 1997; USERO y col., 2005, CHAUDHURI y col., 2007]:

$$MPI = (CF_1 \times CF_2 \times CF_3 \dots \times CF_n)^{\frac{1}{n}}$$

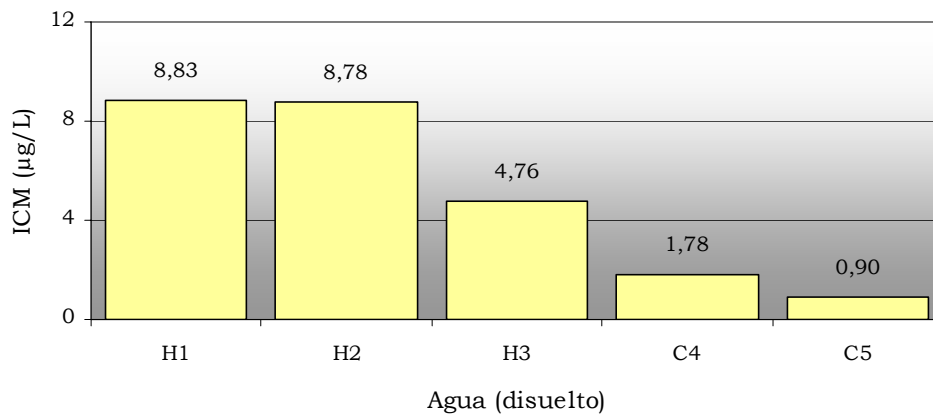
Donde  $CF_n$  es la concentración del metal  $n$  en la muestra. Este índice ha sido ampliamente utilizado en estudios de biomonitorización en ecosistemas acuáticos [GIUSTI 1999; GIUSTI 2001], estudios de contaminación en sedimentos [ROYCHOUDHURY y col., 2006] así como en estudios atmosféricos y con vegetales [SHARMA y col., 2008].

La **Figura IV.1** y **IV.2** recoge los índices de contenido metálico, los cuales se han calculado utilizando las concentraciones de cinc, cobre, cadmio, plomo y arsénico total y disuelto en agua, respectivamente. Con estos índices se observa claramente como el contenido metálico en los puntos de muestreo

de la Ría de Huelva es mucho mayor que el de los puntos de la Bahía de Cádiz, siendo el punto C5 el que tiene un menor índice. Así mismo, se observa en los puntos de la Ría de Huelva una tendencia a la disminución de estos índices al acercarnos a la desembocadura, con valores más elevados en los puntos de los ríos Odiel y Tinto.



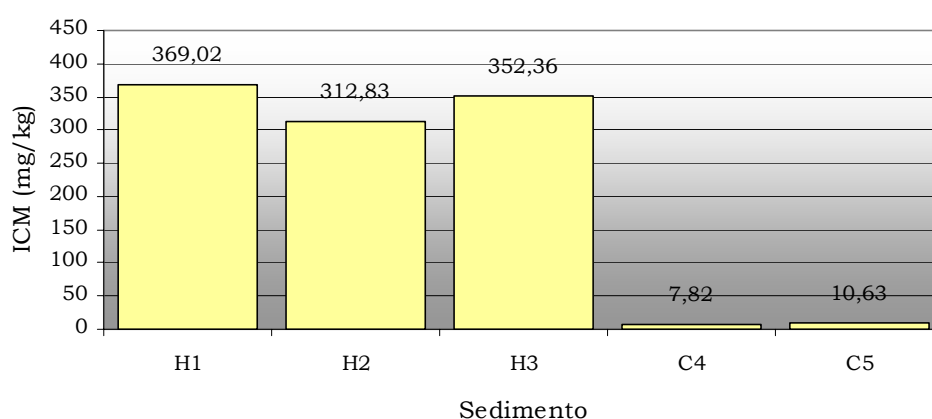
**FIGURA IV.1.** Índice de contaminación metálica para el contenido total en agua en los puntos de muestreo estudiados.



**FIGURA IV.2.** Índice de contaminación metálica para el contenido disuelto en agua en los puntos de muestreo estudiados.

El índice de contenido metálico en sedimentos se representa en la **Figura IV.3**. En este caso se observa una mayor diferencia entre los puntos de muestreo de Huelva y de Cádiz que la observada en los índices de contenido

metálico calculados para agua. La estación con un menor índice en este caso es C4. Hay que destacar que en los puntos de la Ría de Huelva no se observa ahora una disminución en el índice MPI al acercarse hacia la desembocadura, al contrario, se observa que este índice en el canal del Padre Santo es incluso mayor que el del río Tinto. De este modo, se confirma que los metales precipitan cuando se mezclan las aguas ácidas del Tinto y Odiel con las aguas más salinas del océano provocando el paso de los metales de las aguas a los sedimentos.

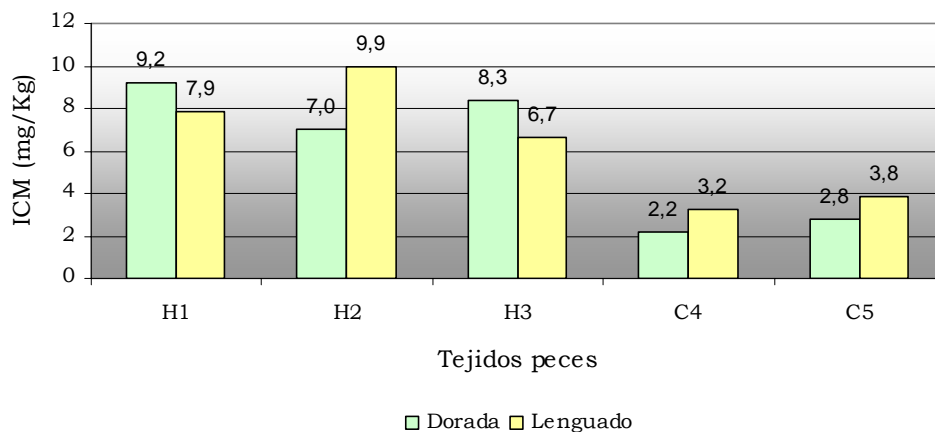


**FIGURA IV.3.** Índice de contaminación metálica para sedimentos en los puntos de muestreo estudiados.

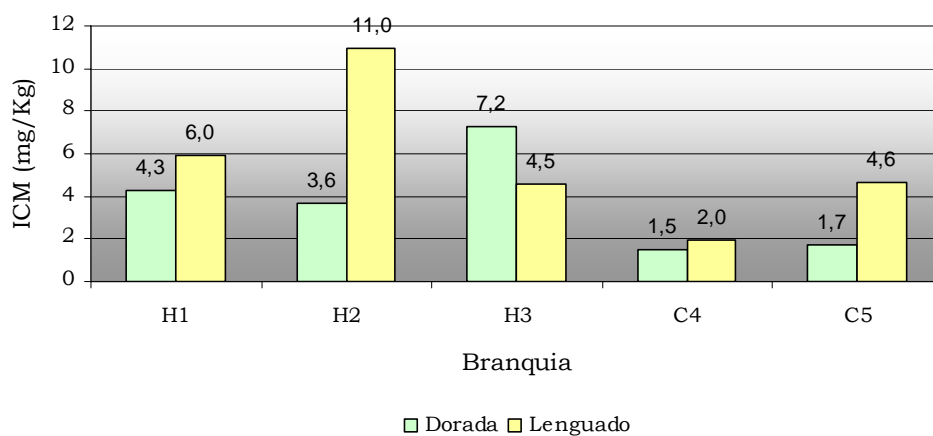
En las Figuras **IV.4** a **IV.7** se muestran los índices de contenido metálico para los tejidos de peces, calculados éstos como valor medio para cada especie y como valor medio para cada uno de los tejidos individuales. Los índices de contenido metálico medio para cada especie son mayores en los puntos de muestreo de la Ría de Huelva, al igual que los índices para aguas y sedimentos. En este caso, no existen grandes diferencias entre las especies estudiadas, aunque hay que indicar que en los puntos de la Bahía de Cádiz los índices para lenguados son siempre ligeramente superiores a los de doradas. A partir de los MPI calculados para cada tejido se pueden ordenar éstos por orden de acumulación como sigue hígado > branquias > músculo, para las dos especies. También se observa que el índice de contaminación metálica tiene una tendencia diferente para cada tejido. De este modo, los MPI de hígado son los más elevados de todos los tejidos, y muestran la misma tendencia descrita anteriormente en agua y sedimento, mientras que los

índices en músculo son similares en todos los puntos de muestreo. En el caso de las branquias, los índices son mayores en los puntos de muestreo de la Ría de Huelva, como ocurre en hígado, pero las diferencias entre los puntos de muestreo de Huelva y de Cádiz son inferiores. Hay que indicar que los índices MPI de las dos especies estudiadas no son muy diferentes entre si, de manera que se observa en casi todos los casos unos índices del mismo orden para ambas especies, con la excepción de los índices observados en branquias, tejido para el que las diferencias entre las especies son mayores, siendo en casi todos los casos mayor el índice en lenguados que en doradas.

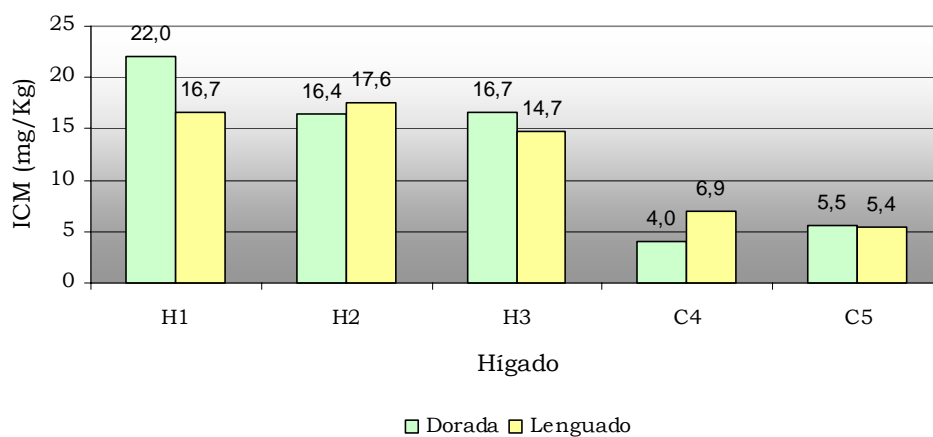
A partir de los índices de contenido metálico en los diferentes tejidos estudiados se puede concluir que el hígado y las branquias son tejidos diana en los que se produce de manera más significativa la acumulación de los metales biodisponibles en el medio, y cuyo contenido permite diferenciar entre ecosistemas con distinto grado de contaminación. Mientras que la bioacumulación en el músculo es menos importante y por tanto es menos discriminante para evaluar diferencias de contaminación entre ecosistemas.



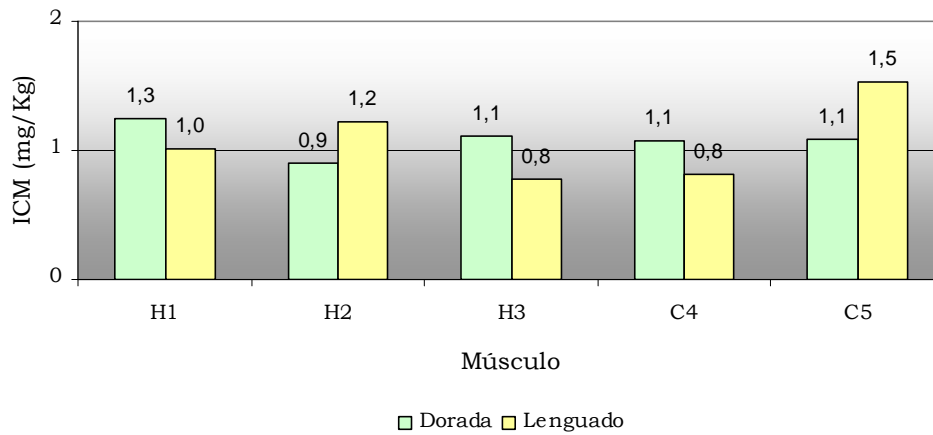
**FIGURA IV.4.** Índice de contaminación metálica media para doradas y lenguados en los puntos de muestreo estudiados.



**FIGURA IV.5.** Índice de contaminación metálica para branquias de doradas y lenguados en los puntos de muestreo estudiados.



**FIGURA IV.6.** Índice de contaminación metálica para hígado de doradas y lenguados en los puntos de muestreo estudiados.



**FIGURA IV.7.** Índice de contaminación metálica para músculo de doradas y lenguados en los puntos de muestreo estudiados.

Para afirmar estos aspectos de forma estadística se ha estudiado si existe alguna relación entre los índices de contaminación metálica hallada en los distintos tejidos de los peces con los índices metálicos calculados en las aguas y los sedimentos. Para ello, y dado que los valores de los índices de contaminación metálica se ajustan a una distribución normal, se ha empleado el análisis de correlación de Pearson (paramétrico). Los coeficientes de correlación obtenidos así como el grado de significación se muestran en la **Tabla IV.1**. En esta tabla se observa que los índices MPI para las concentraciones totales y disueltas en agua están correlacionados de manera positiva, también se observa correlación lineal positiva entre los ICM para los tejidos de hígado en doradas y lenguados. Pero lo más interesante es la elevada correlación positiva que existe entre los ICM en agua y sedimento con los índices calculados para los tejidos de hígado de lenguados y doradas, por lo que según estos índices es la acumulación metálica, de forma genérica, en hígado de los peces la que mejor puede reflejar la contaminación de un ecosistema acuático, tanto en aguas como en sedimentos.

**TABLA IV.1.** Coeficientes de la correlación de Pearson entre los distintos índices de contaminación en todos los puntos de muestreo estudiadas (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

|               |             |               |             |       |             |       |      |       |    |
|---------------|-------------|---------------|-------------|-------|-------------|-------|------|-------|----|
| Total agua    | 1           |               |             |       |             |       |      |       |    |
| Disuelto agua | <b>1</b>    | 1             |             |       |             |       |      |       |    |
| Sed.          | 0,86        | 0,88          | 1           |       |             |       |      |       |    |
| DB            | 0,44        | 0,47          | 0,83        | 1     |             |       |      |       |    |
| DH            | <b>0,90</b> | <b>0,91</b>   | <b>0,97</b> | 0,73  | 1           |       |      |       |    |
| DM            | -0,01       | -0,03         | 0,12        | 0,16  | 0,26        | 1     |      |       |    |
| LB            | 0,74        | 0,75          | 0,56        | 0,20  | 0,56        | -0,56 | 1    |       |    |
| LH            | <b>0,95</b> | <b>0,96</b>   | <b>0,96</b> | 0,68  | <b>0,94</b> | -0,07 | 0,71 | 1     |    |
| LM            | -0,14       | -0,13         | -0,32       | -0,49 | -0,22       | -0,24 | 0,38 | -0,27 | 1  |
|               | Total agua  | Disuelto agua | Sed.        | DB    | DH          | DM    | LB   | LH    | LM |

A continuación, con objeto de comparar el alcance de la contaminación entre los sedimentos en los distintos puntos de muestreo, se ha calculado el factor de enriquecimiento para un metal dado M en los sedimentos usando para ello la siguiente expresión:

$$FE = \frac{\left[ \frac{(M)}{(M)_r} \right]_s}{\left[ \frac{(M)}{(M)_r} \right]_f}$$

donde  $[(M)/(M)_r]_s$  representa el cociente de la concentración en el sedimento del metal M entre la de un metal de referencia presente igualmente en el sedimento. A su vez,  $[(M)/(M)_r]_f$  es el cociente de la concentración del metal en una muestra no contaminada entre la del metal de referencia elegido en esta nueva muestra. Generalmente, se emplea como niveles de la muestra no contaminada los denominados “valores de fondo” de la zona estudiada.

Como elemento de referencia se ha descrito en la bibliografía el uso de Fe, Sc, Zr, entre otros [LÓPEZ-GONZÁLEZ y col., 2005; MARMOLEJO-RÓDRIGUEZ y col., 2007; WAN y col., 2008]. En el presente estudio se ha empleado el Fe como elemento de referencia para normalizar el factor de enriquecimiento, para ello se ha analizado el contenido total de Fe en las muestras analizadas. Son numerosos los métodos propuestos en la bibliografía para determinar el fondo geoquímico en sedimentos actuales. En este trabajo se han empleado los valores de fondo disponibles para la Ría de Huelva y la Bahía de Cádiz, los cuales han sido obtenidos a partir de diferentes métodos: a) el promedio de la totalidad de datos disponibles de sedimentos de la zona de una profundidad mayor a 15-20 cm [BLASCO y col., 2000]; b) el empleo de sedimentos de la Ría de Huelva anteriores a la actividad minera, obtenidos a una profundidad suficiente en la Isla Bacuta, la cual se ubica cerca de confluencia de los ríos Tinto y Odiel [RUIZ, 1998]; c) el estudio de sedimentos no contaminados del litoral de Huelva [FERNÁNDEZ CALIANI y col., 1997]; d) calculados, a través de estudios de toxicidad con sedimentos de la Bahía de Cádiz, considerando aquellos valores por debajo de los cuales no hay efectos biológicos [DELS VALLS y CHAPMAN, 1998]; e) para aquellos elementos que no están descritos sus valores de fondo en la zona se ha empleado los valores descritos por Taylor [TAYLOR, 1964], calculados como los valores medios en la corteza terrestre. Los valores de fondo empleados en este trabajo son los que se muestran en la **Tabla IV.2**.

**TABLA IV.2.** Valores de fondo de As, Pb, Cd, Cu, Zn y Fe ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) en los sedimentos de la Ría de Huelva y de la Bahía de Cádiz.

| ÁREA   | As               | Pb                | Cd               | Cu                | Zn                | Fe                  |
|--------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| Huelva | 6,8 <sup>1</sup> | 4,3 <sup>1</sup>  | 0,5 <sup>2</sup> | 13,1 <sup>1</sup> | 15,9 <sup>1</sup> | 131900 <sup>3</sup> |
| Cádiz  | 1,8 <sup>4</sup> | 66,8 <sup>5</sup> | 0,2 <sup>4</sup> | 21,3 <sup>3</sup> | 70 <sup>4</sup>   | 42200 <sup>3</sup>  |

<sup>1</sup>- [RUIZ, 1998]

<sup>2</sup>- [FERNÁNDEZ CALIANI y col., 1997]

<sup>3</sup>- [BLASCO y col., 2000]

<sup>4</sup>- [TAYLOR, 1964]

<sup>5</sup>- [DELS VALLS y CHAPMAN, 1998]

Los valores del factor de enriquecimiento medio para cada punto de muestreo se recogen en la **Tabla IV.3**, en ella se observa la gran diferencia que existe entre las dos zonas estudiadas. En la Bahía de Cádiz el factor de enriquecimiento es próximo a uno para casi todos los metales estudiados, lo cual indicaría una condición de poca o nula contaminación. Sin embargo, los niveles de enriquecimiento en la Ría de Huelva son extremadamente altos para



todos los metales estudiados, describiendo un ecosistema altamente afectado por la contaminación metálica. A partir de estos datos se puede observar como el enriquecimiento de los metales en la Ría de Huelva sigue el siguiente orden  $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{Zn} > \text{As} > \text{Cd}$ , siendo el Cu un metal relacionado con la contaminación debida al drenaje ácido y el Pb con la actividad industrial. Se observa que el enriquecimiento no coincide exactamente con la concentración total los metales en los sedimentos  $\text{Cu} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{As} > \text{Cd}$ , de modo que al compararlo con los valores de fondo el enriquecimiento de Pb es mayor que el de Zn a pesar de tener éste una mayor concentración en las muestras. Del mismo modo se observa una tendencia de aumento en el enriquecimiento de los sedimentos al aproximarnos a la desembocadura de la ría, seguida del punto H1 (Odiel) que presenta un enriquecimiento mayor que el punto H2 (Tinto). En los puntos de la Bahía de Cádiz el orden de enriquecimiento de los metales en los sedimentos es  $\text{As} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Cd} > \text{Pb}$ , observándose un enriquecimiento de As del orden de 2 a 20 veces superior al resto de los metales. Del mismo modo se observa unos valores de enriquecimiento de Pb, Cd, Cu y Zn en el punto C5 (puente Zuazo) dos veces superiores a las observadas en el punto C4 (Desamparados).

**TABLA IV.3.** Factor de enriquecimiento medio en los sedimentos de los puntos de muestreo estudiadas.

| PUNTO DE MUESTREO | As    | Pb    | Cd   | Cu    | Zn    |
|-------------------|-------|-------|------|-------|-------|
| H1                | 91,2  | 251,5 | 51,9 | 319,0 | 144,1 |
| H2                | 67,1  | 142,7 | 19,7 | 220,4 | 101,0 |
| H3                | 115,0 | 304,6 | 29,9 | 342,2 | 183,2 |
| C4                | 10,9  | 0,2   | 0,8  | 2,9   | 1,0   |
| C5                | 9,6   | 0,4   | 1,6  | 5,7   | 2,2   |

## IV.2. COMPARACIÓN CON OTROS ECOSISTEMAS

En este capítulo y a modo de referencia, se comparan los intervalos de concentración disuelto en agua, en sedimentos y en peces considerados en este trabajo, con otros estudios recientes realizados en otros estuarios y bahías del mundo, así como con otros estudios realizados con las mismas especies de peces objeto de este estudio, cuyos resultados se muestran de la **Tabla IV.4** a la **Tabla IV.9**.

**TABLA IV.4.** Rangos de concentración de metales totales y/o disueltos en agua en este trabajo y otros estuarios del mundo (µg/l).

| Origen                                    | As          | Pb         | Cd            | Cu          | Zn             | Referencia                    |
|---|-------------|------------|---------------|-------------|----------------|-------------------------------|
| Bahía Blanca (Argentina) <sup>2</sup>     | 0,38 - 7,53 |            | 0,18 - 2,46   |             |                | [BOTTE y col., 2007]          |
| Iture (Ghana) <sup>1</sup>                | 20 -75      |            | 11-41         |             | 400 -2450      | [FIANKO y col, 2007]          |
| Gironde (Francia) <sup>2</sup>            | 0,039 - 2,8 |            | 0,004 - 0,401 | 0,42 - 6,46 | 1,11 - 66,6    | [MASSON y col., 2006]         |
| Florida Bay (Estados Unidos) <sup>2</sup> | 0 - 0,28    |            | 0,02 - 0,48   |             |                | [CACCIA y col., 2003]         |
| Mhlathuze (Suráfrica) <sup>1</sup>        | 82 - 448    |            | 14 -76        |             | 52 -260        | [MZIMELA y col., 2003]        |
| Tamesis (Inglaterra) <sup>1</sup>         | 16,3        |            | 0,32          | 31,3        | 92             | [POWER y col., 1999]          |
| Tay (Escocia) <sup>2</sup>                | 0,1         |            | 0,03          | 1           | 0,5            | [OWENS y col., 1997]          |
| Flanders (Bélgica) <sup>2</sup>           | 0,3 - 13,9  |            | 0,1 - 8,9     | 0,3 - 14,5  | 8 - 445        | [BERVOETS y col., 1994]       |
| Ría de Huelva <sup>2</sup>                | 3,4 - 20    |            | 0,5 - 8,7     | 19 - 232    | 127 - 338      | [MORILLO y col., 2008]        |
| Ría de Huelva <sup>2</sup>                | 18 ± 1      |            | 312 ± 1       |             | 178 ± 29       | [GRANDE y col., 2003]         |
| Ría de Huelva <sup>2</sup>                | 60 ± 3      | 0,9 ± 0,1  | 3,4 ± 0,2     | 11 ± 1      | 57 ± 5         | [USERO y col., 2003]          |
| Ría de Huelva <sup>2</sup>                | 1,66 - 16,6 |            | 0,09 - 4,14   | 7,37 - 96   | 10,72 - 645    | [JURADO, 2003]                |
| Ría de Huelva <sup>2</sup>                | 6,44 - 288  |            | 0 - 28,78     | 6,55 - 2160 | 65,38 - 5622   | [ELBAZ-POULCHET y col., 1999] |
| Ría de Huelva <sup>1</sup>                | 2,6 - 9,3   | 2,6 - 17,8 | 0,7 - 8,9     | 20,4 - 72,4 | 49,8 - 381,6   | NUESTRO ESTUDIO               |
| Ría de Huelva <sup>2</sup>                | 2,57 - 8,35 | 0,92 - 5   | 0,4 - 2,97    | 8,38 - 45,8 | 24,28 - 130,30 | NUESTRO ESTUDIO               |

<sup>1</sup> Metal total en agua

<sup>2</sup> Metal disuelto en agua

**TABLA IV.5.** Rangos de concentración de metales totales y/o disueltos en agua en este trabajo y otras bahías del mundo (µg/l).

| Origen  | As          | Pb           | Cd           | Cu           | Zn           | Referencia                |
|---|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------|
| Bahía de Tianjin Bohai (China) <sup>2</sup>         | 0,79 - 2,06 | 3,63 - 12,65 | 0,08 - 0,19  | 1,60 - 4,10  | 3,0 - 55,0   | [WEI y col., 2008]        |
| Bahía de Elefsis (Grecia) <sup>2</sup>              | 29 - 63,2   |              |              | 3,4 - 5,1    | 14,6 - 23    | [PANTAZIDOU y col., 2007] |
| Bahía de Narragansett (Estados Unidos) <sup>2</sup> |             | 0,03 - 0,07  | 0,03 - 0,09  | 0,81 - 1,77  | 1,06 - 4,67  | [KOZELKA y col., 1998]    |
| Bahía de Port Philips (Australia) <sup>1</sup>      | 0,8 -3,3    | 0,7 - 3,6    | <0,05 - 0,41 | 0,5 - 5,6    | <2 - 30      | [PHILLIPS y col., 1992]   |
| Bahía de Cádiz <sup>2</sup>                         | 1,5 ± 0,1   | 0,5 ± 0,1    | 0,1 ± 0,02   | 1,6 ± 0,2    | 12 ± 2       | [USERO y col., 2003]      |
| Bahía de Cádiz <sup>1</sup>                         |             | 3,5 - 118    | 1-2          |              | 23 - 242     | [CARRASCO y col., 2003]   |
| Bahía de Cádiz <sup>2</sup>                         |             | 0,4- 13,1    | 0,02 -0,54   | 1,3 - 7,56   | 0,39 - 35,3  | [JURADO, 2003]            |
| Bahía de Cádiz <sup>1</sup>                         | 0,16 – 1,96 | 1,92 – 16,0  | 0 -0,45      | 2,51 – 14,82 | 6,15 – 48,3  | NUESTRO ESTUDIO           |
| Bahía de Cádiz <sup>2</sup>                         | 0,16 - 1,48 | 1 - 11,34    | 0 - 0,25     | 0,96 - 3,40  | 3,71 - 34,49 | NUESTRO ESTUDIO           |

<sup>1</sup> Metal total en agua

<sup>2</sup> Metal disuelto en agua

**TABLA IV.6.** Rangos de concentración de metales en sedimentos en este trabajo y otros estuarios del mundo (mg/kg).

| Origen                        | As           | Pb            | Cd          | Cu              | Zn             | Referencia                    |
|-------------------------------|--------------|---------------|-------------|-----------------|----------------|-------------------------------|
| Santos y San Vicente (Brasil) |              | 8,69 - 66,2   | <0,1        | <0,1 - 167,2    | 32,6 - 154,2   | [CESAR y col., 2007]          |
| Qua Iboe (Nigeria)            |              | 12 ± 0,5      |             | 34 ± 1          | 100 ± 4,6      | [ESSIEN y col., 2007]         |
| Medway (Inglaterra)           |              | 8 - 203       |             | 9 - 103         | 20 - 392       | [SPENCER y col., 2006]        |
| Ría de Ferrol                 |              | 74 ± 33       |             | 66 ± 32         | 259 ± 103      | [COBELO-GARCÍA y col., 2004b] |
| Mhlathuze (Suráfrica)         |              | 3,37 - 27,9   |             | <1 - 16,7       | 0 - 61,9       | [MZIMELA y col., 2003]        |
| Coatzacoalcos (México)        |              | 21 - 40       |             | 12 - 125        | 69 - 235       | [ROSALEZ y col., 2003]        |
| Florida (Estados Unidos)      | 0 - 17,7     | 0 - 49,4      | 0 - 1,5     | 0 - 93,5        | 0 - 152        | [MACAULEY y col., 2002]       |
| Mersey (Inglaterra)           |              | 540,8 ± 45,1  | 15,7 ± 5,6  | 34,95 ± 5,72    | 330,2 ± 45,1   | [MARTINO y col., 2002]        |
| Estuario Guadalquivir         |              | 7,13 - 32,57  | 0,09 - 3,25 | 5,38 - 78,82    | 162,4- 743,6   | [RIBA y col., 2002]           |
| Ría de Vigo                   | 19,09 - 37,2 | 23,23 - 89,09 | 3,03 - 3,43 | 7,9,3 - 42,4    | 30,7 - 158,4   | [RUBIO y col., 2000]          |
| Flanders (belgica)            |              | 2,1 - 180     | 0,2 - 52,1  | 1,5 - 71,1      | 4,7 - 662      | [BERVOETS y col., 1994]       |
| Ría de Huelva                 |              | 198 - 406     | 1,6 - 3,9   | 789 - 1989      | 987 - 2010     | [CESAR y col., 2007]          |
| Ría de Huelva                 | 758 ± 555    | 709 ± 550     | 3,09 ± 1,95 | 1261 ± 515      | 1431 ± 974     | [RUFO y col., 2007]           |
| Ría de Huelva                 | 354 - 813    | 473 - 3212    | 2,6 - 5,3   | 592 - 1279      | 373 - 2070     | [LÓPEZ-GONZÁLEZ y col., 2006] |
| Ría de Huelva                 | 81 ± 4       | 116 ± 10      | 9 ± 1       | 221 ± 21        | 1000 ± 50      | [USERO y col., 2003]          |
| Ría de Huelva                 | 85,1 -615,4  | 13,8 - 1166,7 | 1,5 - 33,2  | 1115,7 - 3333,6 | 602,9 - 1736,9 | NUESTRO ESTUDIO               |

**TABLA IV.7.** Rangos de concentración de metales en sedimentos en este trabajo y otras bahías del mundo (mg/kg).

| Origen                               | As           | Pb           | Cd           | Cu             | Zn             | Referencia                   |
|--------------------------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|----------------|------------------------------|
| Santander                            | 20 - 262     |              |              | 10 - 141       | 52 - 1160      | [COZ y col., 20008]          |
| Bahía de Tianjin Bohai (China)       | 6,7 - 16,5   | 16,6 - 28,4  | 0,14 - 1,82  | 11,4 - 25,9    | 68,7 - 392,8   | [WEI y col., 2008]           |
| Bahía de Elefsis (Grecia)            | 196,8 - 1147 |              |              | 101,2 - 2480,8 | 626,7- 6047,2  | [PANTAZIDOU y col., 2007]    |
| Kandalaksha (Rusia)                  | 33,15        |              | 0,18 - 0,236 | 41,30 - 48,93  | 88,92 - 102,65 | [COBELO-GARCÍA y col., 2006] |
| Golfo de California (Estados Unidos) |              |              |              | 0,77 - 33      | 7,7 - 105      | [DAESSLÉ y col., 2004]       |
| Bahía de Port Philips (Australia)    | 20 - 190     |              | 1,8 - 26     | 2,7 - 33       | 45 - 190       | [PHILLIPS y col., 1992]      |
| Bahía de Cádiz                       | 12,2 - 99,2  |              | 0,65 - 1,2   | 15,6 - 169     | 18,3 - 360     | [CESAR y col., 2007]         |
| Bahía de Cádiz                       | <0,9 - 44    |              | <0,01 - 0,95 |                | <3,5 - 1749    | [CARRASCO y col., 2003]      |
| Bahía de Cádiz                       | 46,1 - 91,3  |              | 0,5 - 0,87   | 32,4 - 76      | 100 - 212      | [JURADO 2003]                |
| Bahía de Cádiz                       | 6 ± 1        | 26 ± 2       | 0,3 ± 0,1    | 31 ± 1         | 98 ± 6         | [USERO y col., 2003]         |
| Bahía de Cádiz                       | 35,3 - 43,5  |              | 0,21 - 0,41  |                | 97,9 - 141     | [LIGERO y col., 2002]        |
| Bahía de Cádiz                       | 6,77 - 14,48 | 6,69 - 26,31 | 0,06 - 0,22  | 31,85 - 79,65  | 29,96 - 88,51  | NUESTRO ESTUDIO              |

**TABLA IV.8.** Rangos de concentración de metales en doradas descritos en la bibliografía (mg/ kg peso seco).

| Origen   | Especie       | Tejido    | As            | Pb           | Cd           | Cu             | Zn              | Referencia             |
|--|---------------|-----------|---------------|--------------|--------------|----------------|-----------------|------------------------|
| Laguna salada de Beymelek (Turquía) <sup>a</sup> | Sparus aurata | músculo   |               |              |              | 1,42 ± 0,1     | 4,27 ± 0,3      | [UYSAL y col., 2008]   |
|  |               | piel      |               |              |              | 1,21           | 33,5 ± 3,6      |                        |
|  |               | branquias |               |              |              | 1,31           | 200,9 ± 1,3     |                        |
| Laguna salada de Tuzla (Turquía)                 | Sparus aurata | músculo   |               | 0,64 – 1,11  |              | 0,55 – 0,82    | 8,82 – 76,98    | [DURAL y col., 2007]   |
|  |               | hígado    |               |              |              | 2,32 – 2,88    | 37,7 – 59,2     |                        |
|  |               | branquias |               |              |              | 0,83 – 3,700   | 12,2 – 41,7     |                        |
|  |               | gónada    |               |              |              | 0,48 – 0,65    | 19,5 – 41,5     |                        |
| Lago Çamlık (Turquía)                            | Sparus aurata | branquias |               |              | 0,38 – 0,50  |                | 114,96 – 139,32 | [DURAL y col., 2006]   |
|  |               | hígado    |               |              |              |                | 60,16 – 61,45   |                        |
|  |               | gónada    |               |              |              |                | 68,18 – 118,45  |                        |
|  |               | músculo   |               |              |              |                | 33,4 – 67,75    |                        |
| Bahía de Iskenderun (Turquía)                    | Sparus aurata | músculo   |               | 13,6 – 22,1  | 2,1 – 3,2    | 3,4 – 5,8      | 21,1 – 28,700   | [ÇOĞUN y col., 2005]   |
|  |               | branquias |               | 1,85 – 34,1  | 3,8 – 6,2    | 6,1 – 9,1      | 72,4 – 90,2     |                        |
|  |               | hígado    |               | 29,9 – 45,5  | 6,3 – 9,7    | 20,8 – 32,5    | 110,7 – 145,3   |                        |
| Bahía de Iskenderun (Turquía)                    | Sparus aurata | músculo   | 0,19 – 6,23   | 0,09 – 3,7   | 0,080 – 3,46 | 0,86 – 11,57   |                 | [TÜRKMEN y col., 2005] |
| NE Mar Mediterráneo (Turquía)                    | Sparus aurata | músculo   |               | 5,54 ± 0,74  | 1,24 ± 0,46  | 2,84 ± 0,43    | 26,66 ± 7,62    | [CANLI y ATLI, 2003]   |
|  |               | hígado    |               | 8,87 ± 2,13  | 0,96 ± 0,24  | 33,37 ± 16,24  | 76,47 ± 17,41   |                        |
|  |               | branquias |               | 13,31 ± 2,87 | 1,79 ± 0,44  | 5,02 ± 0,83    | 63,1 ± 9,1      |                        |
| Ría de Huelva                                    | Sparus aurata | branquias | 3,65 – 65,62  | 2,32 – 5,69  | 0,05 – 0,2   | 2,95 – 41,92   | 68 – 190,51     | Nuestro estudio        |
|  |               | hígado    | 2,61 – 14,98  | 0 – 3,62     | 0 – 22,01    | 9,22 – 1473,15 | 26,86 – 363,49  |                        |
|  |               | músculo   | 4,98 – 32,45  | 0,05 – 2,55  | 0,001 – 0,02 | 0,95 – 4,29    | 20,52 – 68,49   |                        |
| Bahía de Cádiz                                   | Sparus aurata | branquias | 2,89 – 148,65 | 0,001 – 5,77 | 0 – 0,014    | 0,85 – 3,35    | 60,46 – 111,40  | Nuestro estudio        |
|  |               | hígado    | 2,74 – 77,16  | 0,008 – 1,72 | 0,015 – 0,44 | 2,47 – 126,04  | 66,73 – 782,60  |                        |
|  |               | músculo   | 5,27 – 87,37  | 0 – 1,40     | 0 – 0,29     | 0,22 – 2,97    | 9,05 – 84,58    |                        |

**TABLA IV.9.** Rangos de concentración de metales en lenguados descritos en la bibliografía (mg/ kg peso seco).

| Origen                                | Especie            | Tejido    | As            | Pb            | Cd             | Cu             | Zn             | Referencia                 |
|---------------------------------------|--------------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------------------|
| Bahía de Izmir (Turquía) <sup>a</sup> | Solea vulgaris     | pez       | 0,001 – 0,49  |               | 0,0001 -0,0035 |                |                | [KUCUKSEZGIN y col., 2006] |
| Golfo Pérsico <sup>a</sup>            | Solea elongata     | músculo   | 1,96 – 2,8    |               | 0,053 -0,088   |                |                | [POURANG y col., 2005]     |
| Estuario del Tajo (Portugal)          | Solea senegalensis | músculo   | 1,6 – 8,1     |               | 0,3 – 1,2      | 1 – 3,9        | 18,5 – 138,2   | [FRANÇA y col., 2005]      |
| Bahía de Iskenderun (Turquía)         | Solea solea        | músculo   | 14 – 26,6     |               | 2,1 – 3,5      | 5,2 – 8,3      | 22,7 – 33,8    | [ÇOĞUN y col., 2005]       |
|                                       |                    | branquias | 33,9 – 44,9   |               | 4,8 -9,5       | 6,8 – 17,8     | 78,8 – 107,7   |                            |
|                                       |                    | higado    | 38,2 – 62,8   |               | 7,8 – 13,7     | 193,1 – 260,3  | 114,8 – 160,1  |                            |
| Cádiz                                 | Solea vulgaris     | higado    | 0,68 – 1,06   | 0,08 – 0,09   | 0,2 – 0,23     | 236 – 241      | 15 – 18        | [USERO y col., 2003]       |
|                                       |                    | músculo   | 2,62 – 3,16   | 0,039 – 0,045 | 0,03 – 0,04    | 0,4 – 0,5      | 4,17 – 4,84    |                            |
| Odiel                                 | Solea vulgaris     | higado    | 1,39 – 1,85   | 0,4 – 0,42    | 0,22 – 0,43    | 68,6 – 129     | 21,3 – 25,6    | [USERO y col., 2003]       |
|                                       |                    | músculo   | 3,56 – 3,96   | 0,050         | 0,028          | 0,4 – 0,5      | 7,81 – 8,52    |                            |
| Río Támesis (Inglaterra) <sup>a</sup> | Solea solea        | músculo   | nd – 0,74     |               | nd – 0,38      | nd – 6,15      | 3,3 – 23,4     | [RICKARD y DULLEY, 1983]   |
| Estuario Loira (Francia)              | Solea solea        | pez       | 2,206         |               | 0,034          | 2,141          | 51,8           | [AMIARD y col., 1983]      |
| Ría de Huelva                         | Solea senegalensis | branquias | 2,22– 290,31  | 0,39 – 26,83  | 0,19 – 1,42    | 3,48 – 111,98  | 56,41 – 161,22 | Nuestro estudio            |
|                                       |                    | higado    | 0 – 507,92    | 0,18 – 6,24   | 0 – 6,68       | 0,35 – 1147,9  | 0,24 – 143,07  |                            |
|                                       |                    | músculo   | 2,03 – 61,03  | 0,08 – 3,48   | 0,46 – 37,64   | 0,46 – 3,76    | 11,33 – 68,69  |                            |
| Bahía de Cádiz                        | Solea senegalensis | branquias | 1,30 – 263,85 | 0 – 2,12      | 0 – 0,20       | 0,21 – 692,39  | 5,97 – 99,38   | Nuestro estudio            |
|                                       |                    | higado    | 3,43 – 158,84 | 0 – 0,93      | 0 – 5,54       | 36,71 – 556,43 | 25,71 – 265,8  |                            |
|                                       |                    | músculo   | 2,81 – 110,81 | 0 – 0,29      | 0 – 0,58       | 0,33 – 2,93    | 16,32 – 70,41  |                            |

<sup>a</sup> peso húmedo

En las **Tabla IV.4** y **IV.5** se muestran los intervalos de concentración encontrados para los metales totales y/o disueltos en agua en estuarios y bahías del mundo, respectivamente. En la Ría de Huelva se observan, tanto en nuestro estudio como en los trabajos de otros autores para esta zona, valores de Cu totales y disueltos superiores a los encontrados en otros estuarios, y valores intermedios para los demás metales. Los niveles evaluados por otros autores sólo han sido para el metal disuelto. La mayoría de estos trabajos estudian desde la confluencia de los ríos Tinto y Odiel en la punta de Sebo hasta su desembocadura, excepto los valores correspondientes al trabajo de Usero [USERO y col., 2003], que se refiere a la zona de marismas adyacente a la Ría de Huelva dedicadas a la actividad acuícola. Nuestros resultados son del mismo orden que los descritos en estos trabajos, por ejemplo se obtienen valores de Zn comparables a los descritos por Grande y Morillo [GRANDE y col., 2003; MORILLO y col., 2008], y valores de Cd del mismo orden que los de Jurado, Usero y Morillo [JURADO 2003; USERO y col., 2003; MORILLO y col., 2008]. Hay que indicar que los valores más altos de la tabla, del trabajo de Elbaz-Poulchet y colaboradores, corresponden con un punto de muestreo situado en el estuario del Tinto, entre San Juan del Puerto y la Punta del Sebo a su paso por la ciudad de Huelva, lo cual puede justificar los altos valores descritos. Con respecto a los valores metálicos descritos en la Bahía de Cádiz, se puede decir que son valores intermedios con respecto a los hallados en otras bahías del mundo. Así mismo, estos valores están de acuerdo con los descritos por otros autores para la Bahía de Cádiz, a excepción de los resultados obtenidos por Carrasco, los cuales son visiblemente superiores a los demás, lo cual se debe posiblemente a que sus puntos de muestreo están situados cerca de industrias características de la zona de la bahía.

Cuando se realiza la comparación con los niveles totales en sedimentos (**Tabla IV.6** y **IV.7**), se observa que las concentraciones metálicas en Huelva descritas en la bibliografía son superiores a las publicadas para otros estuarios del mundo para prácticamente todos los metales estudiados, lo cual demuestra que nos encontramos ante uno de los ecosistemas con los sedimentos más contaminados por metales pesados del mundo. La mayoría de trabajos de esta zona con los que se han comparado los resultados incluyen los estuarios de los ríos Odiel y Tinto, que van desde Gibráleon y San Juan del Puerto, respectivamente, hasta la confluencia de ambos ríos en la punta del Sebo, así como el canal común llamado Canal del Padre Santo, con excepción de los resultados publicados por Usero [USERO y col., 2003], que



corresponden con sedimentos de marismas, como se ha indicado anteriormente, y para los que se observa los niveles de metales más bajos. Se observa que los resultados de este estudio son del orden a los descritos en la bibliografía, a excepción del Pb, que presenta valores más altos comparables a los descritos por Rufo [RUFO y col., 2007]. Por el contrario, las concentraciones descritas en los sedimentos de la Bahía de Cádiz son del mismo orden o incluso en el caso del Pb inferiores a los publicados en otras bahías del mundo, siendo las concentraciones de este estudio del mismo orden que las publicadas por otros autores para este sistema.

Las publicaciones encontradas en la bibliografía sobre bioacumulación de metales en doradas (*Sparus aurata*) se refieren en todos los casos a estudios realizados en ecosistemas acuáticos de Turquía. Se observa que los niveles de Cu y Zn en los peces de este estudio son mayores que los encontrados en las doradas de Turquía, en concreto los niveles de estos metales en hígado de doradas de los dos sistemas estudiados son superiores a los de la bibliografía. Hay que recordar que estos son los metales que presentan las concentraciones más altas tanto en aguas como en sedimento en los sistemas estudiados. En el caso de Pb y Cd, los valores hallados en los peces de la Ría de Huelva y la Bahía de Cádiz suelen ser más bajos o estar al nivel de los valores más bajos encontrados en la bibliografía, a excepción del nivel de Cd en hígado de las doradas de Huelva que es mayor que éstos valores. Por último, no se han encontrado en la bibliografía datos de As en doradas para poder compararlos.

Las concentraciones de los metales halladas en lenguados de este estudio son superiores en todos los casos a los descritos por Usero para los mismos sistemas, aunque hay que indicar que los datos de Usero corresponden a peces capturados en marismas dedicadas a la acuicultura, por lo que se espera que sean peces libres de contaminación metálica, además los datos se obtienen a partir de un pull de tejidos de diez peces capturados en una única toma de muestra en un único año, lo que explica la poca variación de estos resultados. Cuando se comparan los datos de este estudio con los publicados para otros ecosistemas se llega a unas conclusiones parecidas a las alcanzadas para doradas. Los niveles de Cu y Zn son mayores a los encontrados en otros estudios, en el caso de Cu sus niveles en branquias e hígado son superiores, tanto en los peces de Huelva como de Cádiz, a los encontrados en la bibliografía, mientras que los valores de Cu en músculo son

del orden de los descritos en lenguados del estuario del Tajo. Sin embargo, en el caso de Zn son sus valores en hígado y músculo los que son superiores a los encontrados en la bibliografía, mientras que los valores de Zn en branquias coinciden con los hallados en lenguados de Turquía. Como se ha indicado anteriormente, en el caso de Pb y Cd también se llegan a conclusiones parecidas a las de las doradas, ya que las concentraciones de ambos metales en los lenguados de Huelva y Cádiz suelen ser igual o inferiores a las publicadas por otros autores, excepto en el caso de la concentración de Zn en músculo de lenguados de Huelva que es superior a la de los estudios con los que se ha comparado.

### **IV.3. COMPARACIÓN CON VALORES DE REFERENCIA**

---

#### **IV.3.1. COMPARACIÓN CON VALORES EN LAS MUESTRAS DE AGUAS**

---

Debido a la ausencia de legislación y/o niveles guías que hagan referencia a la especiación de metales en el medio acuático, se ha realizado la comparación del contenido total o el contenido de metales disueltos en los ecosistemas estudiados, con datos de concentración total y concentración disuelta en aguas legislados y/o referenciados en la bibliografía, con el objetivo de valorar el grado de contaminación de la Ría de Huelva y la Bahía de Cádiz.

En la **Tabla IV.10** se muestran valores de fondo y concentraciones naturales de As, Pb, Cd, Cu y Zn que han sido descritos para agua de mar. Igualmente, se recogen los niveles de referencia para evaluar el impacto sobre la vida acuática, las concentraciones CMC y CCC propuestas por NOAA referidas a metales disueltos, y los valores imperativos legislados por la Junta de Andalucía (Orden de 14 de febrero de 1997, BOJA núm. 27, 4 de marzo 1997) para la calidad de las aguas litorales andaluzas, referidos al contenido metálico total en agua de mar. En esta orden se definen los ríos Tinto y Odiel y la Bahía de Cádiz como zonas de *aguas limitadas*, mientras que el Canal del Padre Santo recibe la clasificación de *aguas normales*.

En la **Tabla IV.11** se comparan los niveles totales de As, Pb, Cd, Cu y Zn, en los puntos de muestreo y para las cuatro campañas de toma de muestras, las cuales se realizaron en las fechas indicadas en la **Tabla II.3**, con los valores de fondo y valores naturales. También se comparan la concentración metálica disuelta con los valores guía de la NOAA-EPA, y los niveles totales de los metales estudiados con los valores imperativos propuestos por la Junta de Andalucía. En estas tablas se indican para cada punto de muestreo las campañas de toma de muestra en las que las concentraciones de As, Pb, Cd, Cu y Zn total o disuelto fueron superiores a los respectivos valores de referencia seleccionados.

**TABLA IV.10.** Valores de fondo, naturales y valores de concentración de metales para agua de mar ( $\mu\text{g/l}$ ).

| METAL | Valores de fondo<br>[FORSTNER y WITTMAN 1983] <sup>1</sup> | Concentraciones naturales<br>[AZCUE 1993] <sup>1</sup> | Criterio NOAA-EPA de calidad de aguas<br>[US EPA 2002] <sup>2</sup> |                  | Objetivos de Calidad de las aguas<br>[BOJA n° 27 4/3/1997] <sup>1</sup> |                     |
|-------|--|--|---|------------------|---|---------------------|
|       |  |  | CMC <sup>3</sup>  | CCC <sup>4</sup> | Clasificación Aguas litorales   | Valores imperativos |
| As    | 2,1  | 1,3-2,5  | 69  | 36               | limitadas   | 50                  |
|       |  |  |   |                  | normales  | 25                  |
| Pb    | 0,005-0,015  | <0,02  | 210   | 8,1              | limitadas   | 20                  |
|       |  |  |   |                  | normales  | 10                  |
| Cd    | 0,01   | <,0,025  | 40  | 8,8              | limitadas   | 5                   |
|       |  |  |   |                  | normales  | 2,5                 |
| Cu    | 0,04-0,1   | 0,01   | 4,8   | 3,1              | limitadas   | 40                  |
|       |  |  |   |                  | normales  | 20                  |
| Zn    | 0,01   | <0,6   | 90  | 81               | limitadas   | 80                  |
|       |  |  |   |                  | normales  | 60                  |

<sup>1</sup> Concentración de metal total

<sup>2</sup> Concentración de metal disuelto

<sup>3</sup> CMC (criterio de máxima concentración): estimación de la máxima concentración de una sustancia en el agua a la cual pueda ser expuesta una comunidad acuática “puntualmente” sin que se produzca ningún efecto no recomendable

<sup>4</sup> CCC (criterio de concentración continuo): estimación de la concentración máxima de una sustancia a la cual puede ser expuesta una comunidad acuática indefinidamente sin que produzca ningún efecto no recomendable

**TABLA IV.11.** Comparación de las concentraciones metálicas totales o disueltas con los valores de fondo y valores guía de concentración para agua de mar (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | METAL | Valores de fondo <sup>1</sup> | Concentraciones naturales <sup>1</sup> | Criterio NOAA-EPA <sup>2</sup> |         | Valores imperativos (J.A.) <sup>1</sup> |
|------|-------|-------------------------------|--|--------------------------------|---------|---|
|      |       |                               |  | CMC                            | CCC     |   |
| H1   | As    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
|      | Pb    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
|      | Cd    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         | 4                                       |
|      | Cu    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                | 1,2,3,4                        | 1,2,3,4 | 2,3,4                                   |
|      | Zn    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                | 2,3,4                          | 2,3,4   | 1,2,3,4                                 |
| H2   | As    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
|      | Pb    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
|      | Cd    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         | 4                                       |
|      | Cu    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                | 1,2,3,4                        | 1,2,3,4 | 2,3,4                                   |
|      | Zn    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                | 1,2,4                          | 1,2,3,4 | 1,2,3,4                                 |
| H3   | As    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
|      | Pb    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
|      | Cd    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
|      | Cu    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                | 1,2,3,4                        | 1,2,3,4 | 1,2,3,4                                 |
|      | Zn    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                | 1                              | 1       | 1,4                                     |
| C4   | As    |                               |  |                                |         |   |
|      | Pb    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                | 1       |   |
|      | Cd    | 1,2,4                         | 1,2,4                                  |                                |         |   |
|      | Cu    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                | 1       |   |
|      | Zn    | 1,2,3,4                       | 1,2,3,4                                |                                |         |   |
| C5   | As    |                               |  |                                |         |   |
|      | Pb    | 1,2,4                         | 1,2,4                                  |                                |         |   |
|      | Cd    | 1,2,4                         | 1,2,4                                  |                                |         |   |
|      | Cu    | 1,2,4                         | 1,2,4                                  |                                |         |   |
|      | Zn    | 1,2,4                         | 1,2,4                                  |                                |         |   |

<sup>1</sup> Concentración de metal total

<sup>2</sup> Concentración de metal disuelto

Ver Tabla II.3 para las fechas de los muestreos

A partir de la **Tabla IV.11** se puede concluir que la concentración total de todos los metales estudiados supera en los dos sistemas y en casi todos los casos los valores de fondo y las concentraciones naturales descritas para agua de mar. La excepción se observa en el caso de As, cuyos valores en los puntos de muestreo de Cádiz se mantienen dentro de los valores de fondo y naturales durante todo el estudio, así como en el caso de la concentración total de Cd en el punto C4 en el tercer muestreo. Sin embargo, no todos los metales superan los niveles de referencia que evalúan el impacto sobre la vida acuática. En este sentido son los metales Zn y Cu los que presentan valores superiores a los valores de CMC, CCC y los valores imperativos de la Junta, principalmente en los puntos de muestreo de la Ría de Huelva. De este modo Cu presenta valores superiores a los de referencia en los tres puntos de muestreo y para la mayoría de los muestreos realizados, en el caso de Zn se observa valores más altos que los de referencia en H1 y H2 para la mayoría de los muestreos realizados así como valores altos en H3 en los muestreos primero y cuarto. El resto de los metales no han superados los niveles de CMC, CCC y valores imperativos en la Ría de Huelva, excepto Cd que supera los valores imperativos en H1 y H2 en el cuarto muestreo. Hay que indicar que en la Bahía de Cádiz, salvo las excepciones de Pb y Cu en el primer muestreo, los metales no superan los valores de referencia CCC, CMC y valores indicativos.

#### **IV.3.2. COMPARACIÓN CON VALORES EN LAS MUESTRAS DE SEDIMENTOS**

---

Se ha comparado el contenido total de los metales presentes en los sedimentos de los puntos de muestreo estudiados, con los valores de fondo en sedimentos no contaminados, utilizándose como referencia de éstos valores las concentraciones medias calculada por Turekian y Wedepohl para esquistos (rocas sedimentarias) [TUREKIAN Y WEDEPOHL, 1961] que constituyen una de las referencias más utilizadas, ya que fueron elegidas por Müller para definir su “Índice de Geoacumulación”. También se ha comparado con los niveles guía para la protección de la vida acuática descritos en la bibliografía. En las **Tabla V.12** y **V.13** se muestran respectivamente los valores de fondo y niveles guía y la comparación con los resultados de este estudio.

**TABLA IV.12.** Valores de fondo y niveles guía de metales en sedimentos marinos (mg/kg).

| METAL | Niveles de fondo de sedimentos no contaminados [TUREKIAN y WEDEPOHL, 1961] | Niveles guía para la protección de la vida acuática [CANADIAN SEDIMENT QUALITY GUIDELINES, 2001] |                  | Niveles guía NS&T con efectos biológicos [LONG, 1995] |                  | Niveles guía para la protección de la vida acuática [NOAA SQuiRTs] |                  |                  | Niveles guía para la protección y gestión de la calidad de sedimentos en Ontario [PERSAUD y col.,1997] |                  | [MACDONALD, 2000] |
|-------|--|--|------------------|---|------------------|--|------------------|------------------|--|------------------|-------------------|
|       | Esquitos (rocas sedimentarias)   | ISQG <sup>a</sup>  | PEL <sup>b</sup> | ERL <sup>c</sup>                                      | ERM <sup>d</sup> | ERL <sup>c</sup>   | PEL <sup>b</sup> | ERM <sup>d</sup> | ERL <sup>c</sup>   | ERM <sup>d</sup> | PEC <sup>e</sup>  |
| As    | 13   | 7,24   | 41,6             | 8,2   | 70               | 8,2  | 41,6             | 70               | 6  | 33               | 33                |
| Pb    | 20   | 30,2   | 112              | 46,7  | 218              | 46,7   | 112,18           | 218              | 31   | 250              | 128               |
| Cd    | 0,3  | 0,7  | 4,2              | 1,2   | 9,6              | 1,2  | 4,21             | 9,6              | 0,6  | 10               | 5                 |
| Cu    | 45   | 18,7   | 108              | 34  | 270              | 34   | 108,2            | 270              | 16   | 110              | 149               |
| Zn    | 95   | 124  | 271              | 150   | 410              | 150  | 271              | 410              | 120  | 820              | 459               |

<sup>a</sup> ISQG: valor guía de calidad del sedimento

<sup>b</sup> PEL: nivel con efectos probables sobre la vida acuática

<sup>c</sup> ERL: concentración con efectos biológicos bajos

<sup>d</sup> ERM: concentración con efectos biológicos considerables

<sup>e</sup> PEC: concentración con efectos biológicos probables (niveles guía de calidad en sedimentos hallado por consenso entre los niveles descritos hasta la fecha)

**TABLA IV.13.** Comparación de la concentración metálica total con los valores de fondo y niveles de calidad (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | METAL | Niveles de fondo | Canadian SQG 2001 |         | Niveles guía NS&T |         | NOAA SquiRTs |         |         | Niveles guía Ontario |         | PEC     |
|------|-------|------------------|-------------------|---------|-------------------|---------|--------------|---------|---------|----------------------|---------|---------|
|      |       |                  | ISQG              | PEL     | ERL               | ERM     | ERL          | PEL     | ERM     | ERL                  | ERM     |         |
| H1   | As    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Pb    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 2,3,4   | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 2,3,4   | 1,2,3,4              | 2,3     | 1,2,3,4 |
|      | Cd    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 2,3,4   | 1,2,3,4           | 2,3     | 1,2,3,4      | 2,3,4   | 2,3     | 1,2,3,4              | 2,3     | 1,2,3,4 |
|      | Cu    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Zn    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 2,3,4   | 1,2,3,4 |
| H2   | As    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Pb    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Cd    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 3       | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 3       | 1,2,3,4              | 3       | 1,2,3,4 |
|      | Cu    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Zn    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,3,4   | 1,2,3,4 |
| H3   | As    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Pb    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Cd    | 1,2,3,4          | 1,2,3             | 2,3     | 1,2,3             | 3       | 1,2,3        | 2,3     | 3       | 1,2,3,               | 3       | 1,2,3,4 |
|      | Cu    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |
|      | Zn    | 1,2,3,4          | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4           | 1,2,3,4 | 1,2,3,4      | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 | 1,2,3,4              | 1,2,3,4 | 1,2,3,4 |

Ver Tabla II.3 para las fechas de los muestreos

**TABLA IV.13 (cont.).** Comparación de la concentración metálica total con los valores de fondo y niveles de calidad (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | METAL | Niveles de fondo | Canadian SQG 2001 |     | Niveles guía NS&T |     | NOAA SquiRTs |     |     | Niveles guía Ontario |     | PEC |
|------|-------|------------------|-------------------|-----|-------------------|-----|--------------|-----|-----|----------------------|-----|-----|
|      |       |                  | ISQG              | PEL | ERL               | ERM | ERL          | PEL | ERM | ERL                  | ERM |     |
| C4   | As    | 4                | 1,2,3,4           |     | 1,2,3,4           |     | 1,2,3,4      |     |     | 1,2,3,4              |     |     |
|      | Pb    |                  |                   |     |                   |     |              |     |     |                      |     |     |
|      | Cd    |                  |                   |     |                   |     |              |     |     |                      |     |     |
|      | Cu    | 3                | 1,2,3,4           |     | 2,3,4             |     | 2,3,4        |     |     | 1,2,3,4              |     |     |
|      | Zn    |                  |                   |     |                   |     |              |     |     |                      |     |     |
| C5   | As    | 1                | 1,4               |     | 1,4               |     | 1,4          |     |     | 1,2,4                |     |     |
|      | Pb    | 1                |                   |     |                   |     |              |     |     |                      |     |     |
|      | Cd    |                  |                   |     |                   |     |              |     |     |                      |     |     |
|      | Cu    | 1,2,4            | 1,2,4             |     | 1,2,4             |     | 1,2,4        |     |     | 1,2,4                |     |     |
|      | Zn    |                  |                   |     |                   |     |              |     |     |                      |     |     |

Ver Tabla II.3 para las fechas de los muestreos



La comparación de las concentraciones totales en los sedimentos con los valores de fondo y los niveles guía presenta grandes diferencias entre los sistemas de Huelva y Cádiz. En la Ría de Huelva, conocido por ser uno de los estuarios más contaminados por metales pesados del mundo, los valores de As, Cu y Zn en todos los muestreos son superiores tanto a los niveles de fondo como a las concentraciones con efectos biológicos probables (PEC) y a los niveles por encima de los cuales se dan efectos biológicos considerables (ERM). Los metales Pb y Cd superan en todos los puntos de muestreo y todas las campañas los valores de fondo, los valores guía de calidad del sedimento ISQG y los niveles ERL, PEL y PEC, pero mientras que los niveles de Pb en H2 y H3 superan siempre las concentraciones con efectos biológicos considerables y en casi todos los casos en H1, las concentraciones de Cd solo superan este valor en los muestreos segundo y tercero. Por otro lado, en la Bahía de Cádiz solo As y Cu presentan valores superiores a los niveles ISQG y ERL, aunque hay que indicar que para estos metales los valores de estos niveles guía son inferiores a los niveles de fondo, como se observa del hecho que en pocas ocasiones As y Cu superan los niveles de fondo. El resto de los metales se mantienen en los sedimentos de Cádiz dentro de los niveles definidos por Turekian.

#### **IV.3.3. COMPARACIÓN CON VALORES EN LAS MUESTRAS DE PECES**

Se ha comparado la concentración de los metales objetos de estudio hallada en los tejidos de peces, con los límites legales y estándares descritos en la bibliografía.

En la **Tabla IV.14** se muestran los límites legales vigentes en la Comunidad Europea, así como los estándares o niveles guías de distintos países y el nivel de tolerancia de la Organización Mundial de la Salud. Así como para sedimentos y aguas se entienden que los valores son los usuales, los de fondo y los que producen daño, aquí en peces, excepto la primera columna que hace referencia a límites legales, el resto son los niveles de calidad guía establecidos por distintos países y el nivel de tolerancia para determinados metales que no producen efectos para los peces establecido por la OMS.

**TABLA IV.14.** Valores guía para el contenido de metales en peces (mg/kg peso húmedo).

| METAL | Contenido máximo (CE) <sup>1</sup>                        | Estándar de Nueva Zelanda <sup>2</sup> | Estándar de Canadá <sup>2</sup> | Estándar de Hong Kong <sup>2</sup> | Estándar de Zambia <sup>2</sup> | Niveles Guía Turquía (1988) <sup>3</sup> | Nivel de tolerancia en peces (FAO/WHO, 1989; ITS, 2000) <sup>3</sup> |
|-------|---|--|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|--|--|
| As    |   | 1                                      | 3,5                             | 1,4                                | 5                               |  |  |
| Pb    | 0,3   | 2                                      | 0,5                             | 6                                  | 10                              | 1  | 0,5  |
| Cd    | 0,05 <sup>4</sup> / 0,10 <sup>5</sup> / 0,30 <sup>6</sup> | 1                                      |                                 | 2                                  |                                 | 0,1                                      | 0,1  |
| Cu    |   | 30                                     |                                 |                                    | 100                             | 20                                       |  |
| Zn    |   | 40                                     |                                 |                                    | 100                             | 50                                       | 50   |

<sup>1</sup> Reglamento CE N° 1881/2006<sup>4</sup> clase 1- carne de pescado excluidas las especies numeradas en clase 2 y clase 3<sup>5</sup> clase 2- carne de los siguientes pescados: anchoa, bonito, mojarra, anguila, lisa, jurel, luvaro, sardina, atún, acedía<sup>6</sup> clase 3- carne de pez espada<sup>2</sup> California Environmental Protection Agency: State water resources control board water quality<sup>3</sup> [DEMIRAK y col., 2006]

Los datos de referencia encontrados en la bibliografía suelen estar referidos a peso húmedo de tejido, pero en este estudio se obtuvieron los niveles de acumulación metálica como mg de metal por Kg de peso seco de muestras. Por ello, y para realizar la comparación, se realizó una transformación de los valores obtenidos mediante un factor que incluye el porcentaje medio de humedad de los tejidos (50% peso para hígado y 77% para músculo). La comparación se establece para todos los puntos de muestreo y para las cuatro campañas de toma de muestras, las cuales se realizaron en las fechas indicadas en la **Tabla II.3**, en muestras de hígado y músculo, para las que se disponía de los valores de referencia de porcentaje de humedad. De la **Tabla IV.15** a la **Tabla IV.19** se comparan los niveles de metales con los valores guía que aparecen en la **Tabla IV.14**.

**TABLA IV.15.** Comparación de los datos de As referido a peso húmedo, en hígado y músculo de los peces con los valores límites legales (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | PEZ <sup>a</sup> | TEJIDO <sup>a</sup> | Estándar de Nueva Zelanda | Estándar de Canadá | Estándar de Hong Kong | Estándar de Zambia |
|------|------------------|---------------------|---------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| H1   | L                | H                   | 1,2,3,4                   | 2,4                | 1,2,3,4               | 4                  |
|      |                  | M                   | 1,2,3,4                   | 1,2,3,4            | 1,2,3,4               | 2,3,4              |
|      | D                | H                   | 1,3,4                     | 4                  | 1,3,4                 | 4                  |
|      |                  | M                   | 1,3,4                     | 1,3,4              | 1,3,4                 | 1,3,4              |
| H2   | L                | H                   | 2,3,4                     | 4                  | 2,3,4                 | 4                  |
|      |                  | M                   | 2,3,4                     | 3,4                | 2,3,4                 | 3,4                |
|      | D                | H                   | 3                         |                    | 3                     |                    |
|      |                  | M                   | 3                         | 3                  | 3                     |                    |
| H3   | L                | H                   | 3                         |                    | 3                     |                    |
|      |                  | M                   | 3                         | 3                  | 3                     | 3                  |
|      | D                | H                   | 3,4                       |                    | 3,4                   |                    |
|      |                  | M                   | 3,4                       | 3,4                | 3,4                   | 4                  |
| C4   | L                | H                   | 1,2,3,4                   | 1,2,3,4            | 1,2,3,4               | 1,4                |
|      |                  | M                   | 1,2,3,4                   | 1,2,3,4            | 1,2,3,4               | 1,2,3,4            |
|      | D                | H                   | 1,2,3,4                   | 1                  | 1,2,3,4               | 4                  |
|      |                  | M                   | 1,2,3,4                   | 1,2,3,4            | 1,2,3,4               | 1,2,3,4            |
| C5   | L                | H                   | 2,3,4                     | 1,4                | 2,3,4                 | 4                  |
|      |                  | M                   | 3,4                       | 4                  | 3,4                   | 4                  |
|      | D                | H                   | 2,4                       | 2,4                | 2,4                   | 2,4                |
|      |                  | M                   | 3,4                       | 3,4                | 3,4                   | 3,4                |

<sup>a</sup> L-lenguado, D-dorada, H-hígado, M-músculo

Ver Tabla II.3 para las fechas de los muestreos

**TABLA IV.16.** Comparación de los datos de Pb referido a peso húmedo, en hígado y músculo de los peces con los valores límites legales (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | PEZ <sup>a</sup> | TEJIDO <sup>a</sup> | Contenido máximo (CE) | Estándar de Nueva Zelanda | Estándar de Canadá | Estándar de Hong Kong | Estándar de Zambia | Niveles Guía Turquía | FAO/WHO, ITS |
|------|------------------|---------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------------|
| H1   | L                | H                   | 1,2,3,4               |                           | 1,2,3,4            |                       |                    |                      | 1,2,3,4      |
|      |                  | M                   | 3                     |                           | 3                  |                       |                    |                      | 3            |
|      | D                | H                   | 2,4                   |                           | 2,4                |                       |                    |                      | 2,4          |
|      |                  | M                   | 3                     |                           |                    |                       |                    |                      |              |
| H2   | L                | H                   | 2,3,4                 |                           | 3,4                |                       |                    |                      | 3,4          |
|      |                  | M                   | 2,4                   |                           | 4                  |                       |                    |                      | 4            |
|      | D                | H                   | 3                     |                           | 3                  |                       |                    | 3                    | 3            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
| H3   | L                | H                   | 3                     |                           | 3                  |                       |                    |                      | 3            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
|      | D                | H                   | 3                     |                           | 3                  |                       |                    | 3                    | 3            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
| C4   | L                | H                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
|      |                  | M                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
|      | D                | H                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
|      |                  | M                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
| C5   | L                | H                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
|      |                  | M                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |
|      | D                | H                   | 3                     |                           |                    |                       |                    |                      |              |
|      |                  | M                   |                       |                           |                    |                       |                    |                      |              |

<sup>a</sup> L-lenguado, D-dorada, H-hígado, M-músculo

Ver Tabla II.3 para las fechas de los muestreos

**TABLA IV.17.** Comparación de los datos de Cd referido a peso húmedo, en hígado y músculo de los peces con los valores límites legales (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | PEZ <sup>a</sup> | TEJIDO <sup>a</sup> | Contenido máximo (CE) | Estándar de Nueva Zelanda | Estándar de Hong Kong | Niveles Guía Turquía | FAO/WHO, ITS |
|------|------------------|---------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------|--------------|
| H1   | L                | H                   | 1,2,3,4               | 2,4                       |                       | 1,2,3,4              | 1,2,3,4      |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
|      | D                | H                   | 1,3,4                 | 4                         | 4                     | 1,3,4                | 1,3,4        |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
| H2   | L                | H                   | 2,3,4                 |                           |                       | 2,3,4                | 2,3,4        |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
|      | D                | H                   | 3                     | 3                         |                       | 3                    | 3            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
| H3   | L                | H                   | 3                     |                           |                       | 3                    | 3            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
|      | D                | H                   | 3,4                   | 3                         |                       | 3,4                  | 3,4          |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
| C4   | L                | H                   | 4                     | 4                         |                       | 4                    | 4            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
|      | D                | H                   | 4                     |                           |                       | 4                    | 4            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |
| C5   | L                | H                   | 4                     |                           |                       |                      |              |
|      |                  | M                   | 2,4                   |                           |                       |                      |              |
|      | D                | H                   | 3,4                   |                           |                       | 4                    | 4            |
|      |                  | M                   |                       |                           |                       |                      |              |

<sup>a</sup> L-lenguado, D-dorada, H-hígado, M-músculo  
Ver Tabla II.3 para las fechas de los muestreos

**TABLA IV.18.** Comparación de los datos de Cu referido a peso húmedo, en hígado y músculo de los peces con los valores límites legales (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | PEZ <sup>a</sup> | TEJIDO <sup>a</sup> | Estándar de Nueva Zelanda | Estándar de Zambia | Niveles Guía Turquía |
|------|------------------|---------------------|---------------------------|--------------------|----------------------|
| H1   | L                | H                   | 1,2,3,4                   | 1,2,3,4            | 1,2,3,4              |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
|      | D                | H                   | 1,3,4                     | 4                  | 1,3,4                |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
| H2   | L                | H                   | 2,3,4                     | 2,3,4              | 2,3,4                |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
|      | D                | H                   | 3                         |                    | 3                    |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
| H3   | L                | H                   | 3                         | 3                  | 3                    |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
|      | D                | H                   | 2,4                       | 2,4                | 2,4                  |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
| C4   | L                | H                   | 1,2,3,4                   | 1,4                | 1,2,3,4              |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
|      | D                | H                   |                           |                    |                      |
|      |                  | M                   | 4                         |                    | 4                    |
| C5   | L                | H                   | 1,4                       |                    | 1,4                  |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |
|      | D                | H                   |                           |                    |                      |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |

<sup>a</sup> L-lenguado, D-dorada, H-hígado, M-músculo

Ver Tabla II.3 para las fechas de los muestreos

**TABLA IV.19.** Comparación de los datos de Zn referido a peso húmedo, en hígado y músculo de los peces con los valores límites legales (se indican los muestreos en los que se detectan valores superiores a los de referencia).

| P.M. | PEZ <sup>a</sup> | TEJIDO <sup>a</sup> | Estándar de Nueva Zelanda | Estándar de Zambia | Niveles Guía Turquía | FAO/WHO, ITS |
|------|------------------|---------------------|---------------------------|--------------------|----------------------|--------------|
| H1   | L                | H                   | 1,3,4                     |                    | 1,2                  | 1,2          |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
|      | D                | H                   | 1,3,4                     | 1,3,4              | 1,3,4                | 1,3,4        |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
| H2   | L                | H                   | 2                         |                    | 2                    | 2            |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
|      | D                | H                   | 3                         |                    | 3                    | 3            |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
| H3   | L                | H                   | 3                         |                    |                      |              |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
|      | D                | H                   | 3,4                       | 3                  | 3,4                  | 3,4          |
|      |                  | M                   | 4                         |                    |                      |              |
| C4   | L                | H                   | 1,4                       |                    | 4                    | 4            |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
|      | D                | H                   | 1,2,3,4                   |                    | 1,2,3,4              | 1,2,3,4      |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
| C5   | L                | H                   | 4                         |                    |                      |              |
|      |                  | M                   |                           |                    |                      |              |
|      | D                | H                   | 2,4                       |                    | 2,4                  | 2,4          |
|      |                  | M                   | 3                         |                    |                      |              |

<sup>a</sup> L-lenguado, D-dorada, H-hígado, M-músculo

A partir de la comparación de los valores metálicos en peces con los niveles guía, mostrado en las tablas anteriores se puede destacar:

- o El As es el metal que en mayor número de ocasiones supera los niveles estándares de los distintos países y los niveles de tolerancia de la FAO. Los niveles de este metal en hígado y músculo de ambas especies supera los niveles estándares en los puntos de muestreos H1 y C4 en casi todas las campañas realizadas. Sin embargo en el punto de muestreo H2, los niveles de As son superiores a los estándares en los tejidos de lenguado en los muestreos segundo, tercero y cuarto, pero solo son superiores en el tercer muestreo en los tejidos de dorada. Por último, los puntos de muestreo H3 y C5 son los que en menos ocasiones se han superado los estándares de As, lo cual ocurre principalmente en el tercer y cuarto muestreo y en alguna ocasión en

el segundo. En las aguas el As se mantiene en todos los puntos por debajo de los niveles guía de la NOAA-EPA y los valores imperativos de la Junta, pero en sedimentos se alcanzaban los niveles con efectos biológicos tanto en los puntos de Huelva como en el punto C4 en Cádiz.

- Para Pb solo se superan el contenido máximo de la CE, los estándares de Canadá y los niveles de tolerancia de la FAO en los puntos de muestreo de la Ría de Huelva, principalmente en los puntos de muestreo H1 y H2, tanto en músculo como en hígado de dorada y lenguado, mientras que en H3 solo se superan estos estándares en hígado de ambas especies y solo en el tercer muestreo. Lo cual coincide con las observaciones hechas para los niveles de Pb en sedimento que superan siempre en Cádiz los niveles con efectos biológicos, no ocurriendo esto en Cádiz.
- El contenido máximo de la CE, los estándares de Turquía y los niveles de tolerancia de Cd, solo se superan en los tejidos de hígado de ambas especies y en muy pocas ocasiones en músculo de lenguado, lo cual se corresponde con el orden de bioacumulación observado para este metal anteriormente (hígado > branquias > músculo). Se observa que los puntos de muestreo H1 y H2 vuelven a ser puntos críticos en los que se superan los niveles de la **Tabla IV.14** en la mayoría de las campañas realizadas, mientras que en los otros puntos sólo se han obtenido concentraciones mayores a estos niveles en el tercer y cuarto muestreo principalmente. Al comparar los niveles de Cd en sedimentos se observó como eran los puntos H1 y H2 los que estaban más afectados por la contaminación de este metal, superando en todas las ocasiones los niveles guía ERL, PEL y PEC, mientras que en H3 lo hace principalmente en el segundo y tercer muestreo.
- En el caso del Cu, que presenta el mismo orden de bioacumulación en los tejidos que Cd, también presenta semejanzas con este metal en su comparación respecto a los estándares de Nueva Zelanda, Zambia y Turquía. De este modo, se observa que sólo en hígado de lenguados y doradas se superan estos valores, en el caso de los lenguados en la mayoría de los muestreos realizados y para casi todos los puntos, a excepción de H3 y C5, en los que no en todos los muestreos se superan estos niveles. En el caso de las doradas, el punto de muestreo en el que más veces se superan los estándares es H1. En H2 y H3 se superan en menos ocasiones los niveles guía, lo cual ocurre en las



muestras del tercer muestreo para H2 y en las muestras del segundo y cuarto muestreo en H3. Este un metal cuya contaminación en la Ría de Huelva está muy extendida, siendo sus valores siempre superiores a los niveles guía y de calidad tanto en agua como en sedimento, también en Cádiz se han observado valores de Cu en los sedimentos en todos los muestreos superiores a los niveles con un efecto biológico bajo ERL, aunque sus niveles en agua sólo son superiores a los valores de fondo.

- El Zn presenta valores superiores a los niveles guía y de tolerancia en hígado de dorada y lenguado generalmente y en músculo de dorada ocasionalmente. La dorada es la especie cuyos niveles de Zn mas veces supera a los legales, especialmente en los puntos de muestreo H1 y C4, en el resto de puntos de muestreo solo ocasionalmente se superan estos niveles en dorada y/o lenguados. Aunque los niveles de Zn en agua y sedimento superan en la mayoría de los casos los niveles de calidad con efecto biológico, en Cádiz y en concreto en el punto de muestreo C4 sólo supera los niveles de fondo en las aguas.



CAPÍTULO V: RELACIÓN  
METÁLICA ENTRE  
COMPARTIMENTOS Y  
BIODISPONIBILIDAD



En el medio acuático los metales se encuentran distribuidos entre los distintos compartimentos que lo componen (sedimento, columna de agua y biota), produciéndose un intercambio de metales entre la columna de agua y los sedimentos (debido a procesos de precipitación, removilización, resuspensión, deposición...), siendo este intercambio más acusado en ecosistemas de características particulares como los estuarios. También ocurre un enriquecimiento de metales en la biota a partir de los metales presentes en los sedimentos y las aguas, que es función de la biodisponibilidad de los mismos, y que depende a su vez de procesos biogeoquímicos y fisiológicos.

En este capítulo se ha abordado el estudio de las posibles interrelaciones entre los diferentes compartimentos estudiados: agua, sedimento y biota. Se trata de encontrar correlaciones entre las tendencias de enriquecimiento o intercambio de metales pesados entre cada dos fases: agua ↔ sedimento, agua ↔ pez, sedimento ↔ pez.

En primer lugar, y ya habiendo estudiado en el capítulo III la distribución de los metales en los compartimentos de la Ría de Huelva y la Bahía de Cádiz, se ha estudiado la migración o intercambio de metales que se puede producir entre la columna de agua y los sedimentos. Con este propósito, y debido a que los datos no siguen una distribución normal (anexo A.4), se ha empleado la correlación de Spearman entre las fracciones de la especiación metálica en agua y sedimentos para los sistemas de Huelva y Cádiz, **Tabla V.1** y **V.2**, respectivamente.

Como se observa en la **Tabla V.1**, en la Ría de Huelva se han hallado correlaciones entre la distribución de los metales en las aguas y sedimentos para todos los metales estudiados. Éstos se pueden dividir en dos grupos en función de las correlaciones encontradas. El primer grupo estaría formado por Zn y Pb, metales para los que se han encontrado correlaciones negativas entre las fracciones de agua y las de sedimento, lo cuál parece indicar un comportamiento conservativo y una migración de los metales desde sus fracciones menos disponibles del agua al sedimento. De este modo Zn parece migrar desde las fracciones menos disponibles de las aguas, fracción poco lábil inorgánica y fracción particulada, hacia la fracción reducible de los sedimentos; por su parte el intercambio para Pb ocurre entre las fracciones

poco lábil inorgánica y orgánica de agua a la fracción oxidable de los sedimentos. El segundo grupo estaría formado por As, Cd y Cu, para los cuales existen correlaciones positivas entre su especiación en aguas y en sedimentos. Así, para As se establecen correlaciones entre las fracciones orgánica y particulada de las aguas con las fracciones intercambiable, reducible e intercambiable de los sedimentos, respectivamente. Para Cd y Cu se establece correlación entre la fracción poco lábil orgánica y lábil orgánica, respectivamente, con la fracción reducible de los sedimentos. Por último, de este estudio se deduce además que la concentración metálica residual en los sedimentos no está involucrada en el intercambio de metales entre los sedimentos y la columna de agua.

En la Bahía de Cádiz apenas existen correlaciones entre la especiación de los metales en las aguas y los sedimentos. Este sistema tiene un contenido metálico menor que la Ría de Huelva, además en él no se dan las condiciones características de un estuario como el de Huelva que favorecen los procesos de intercambio de metales entre la columna de agua y los sedimentos. Aún así, se han encontrado relaciones entre la distribución de Zn y Cu en aguas y sedimentos. En el primer caso, estas correlaciones describen el intercambio de Zn que ocurre entre las fracciones lábil inorgánica y no lábil de las aguas con las fracciones oxidable y residual de los sedimentos, respectivamente. En el caso de Cu, la correlaciones positivas entre la fracción poco lábil orgánica en aguas y oxidable de los sedimentos y entre la fracción lábil orgánica de las aguas con la fracción residual puede indicar un aporte común de Cu en las aguas y sedimentos. Para el resto de los metales estudiados, As, Pb y Cd no se han hallado correlaciones significativas. En el caso de Pb y Cd, cuyas concentraciones en las aguas y sedimentos de la Bahía no superan los niveles guías y de calidad, tal y como se ha mencionado en el capítulo anterior, la ausencia de correlaciones puede indicar que a estos niveles los procesos de intercambio entre la columna de agua y el sedimento en las condiciones físico-químicas de la Bahía, no son lo suficientemente importantes para reflejarse en este estudio de correlación. Sin embargo, para As cuyos niveles en agua se mantienen dentro de los niveles de fondo o naturales pero sus niveles en sedimento superan los niveles de calidad de los mismos ISQG y los niveles con efectos biológicos bajos, la falta de correlaciones entre las fracciones de las aguas y sedimentos se puede deber a que el As se encuentra mayoritariamente distribuido en la fracción residual de los sedimentos, tal y

como se ha indicado en el capítulo III, por lo que no es fácil que se removilece hacia la columna de agua.

**TABLA V.1.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre la especiación de metales en agua y en sedimentos para la Ría de Huelva (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

| Fracciones metálicas en agua |                          | Fracciones metálicas en sedimentos |              |              |            |
|------------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------|--------------|------------|
|                              |                          | F. intercambiable                  | F. reducible | F. oxidable  | F. residuo |
| As                           | F. inorgánica            | 0,14                               | 0,10         | 0,36         | 0,14       |
|                              | F. orgánica              | <b>0,77</b>                        | <b>0,69</b>  | 0,25         | 0,35       |
|                              | F. particulado           | <b>0,78</b>                        | 0,36         | 0,22         | 0,38       |
| Pb                           | F. lábil inorgánica      | 0,22                               | -0,13        | -0,48        | -0,22      |
|                              | F. lábil orgánica        | 0,15                               | -0,31        | -0,47        | -0,38      |
|                              | F. poco lábil inorgánica | 0,09                               | -0,43        | <b>-0,59</b> | -0,20      |
|                              | F. poco lábil orgánica   | -0,02                              | -0,39        | <b>-0,59</b> | -0,20      |
|                              | F. no lábil              | -0,11                              | 0,07         | 0,21         | -0,15      |
|                              | F. particulada           | 0,03                               | 0,03         | 0,13         | 0,14       |
| Cd                           | F. lábil inorgánica      | -0,04                              | 0,07         | 0,05         | -0,24      |
|                              | F. lábil orgánica        | 0,02                               | 0,21         | 0,13         | -0,05      |
|                              | F. poco lábil inorgánica | -0,31                              | 0,15         | 0,15         | -0,06      |
|                              | F. poco lábil orgánica   | -0,03                              | <b>0,64</b>  | 0,33         | 0,29       |
|                              | F. no lábil              | 0,32                               | -0,27        | -0,06        | -0,12      |
|                              | F. particulada           | -0,44                              | -0,15        | -0,18        | -0,53      |
| Cu                           | F. lábil inorgánica      | 0,43                               | 0,44         | -0,20        | 0,04       |
|                              | F. lábil orgánica        | 0,32                               | <b>0,62</b>  | -0,27        | -0,05      |
|                              | F. poco lábil inorgánica | -0,43                              | -0,52        | 0,10         | -0,06      |
|                              | F. poco lábil orgánica   | -0,24                              | -0,08        | 0,24         | 0,46       |
|                              | F. no lábil              | -0,25                              | -0,15        | 0,14         | 0,12       |
|                              | F. particulada           | -0,31                              | -0,31        | 0,14         | 0,18       |
| Zn                           | F. lábil inorgánica      | 0,16                               | 0,13         | -0,13        | 0,11       |
|                              | F. lábil orgánica        | 0,14                               | 0,09         | -0,02        | 0,18       |
|                              | F. poco lábil inorgánica | -0,22                              | <b>-0,58</b> | 0,00         | -0,25      |
|                              | F. poco lábil orgánica   | 0,14                               | 0,11         | -0,09        | -0,37      |
|                              | F. no lábil              | 0,11                               | 0,39         | -0,08        | -0,11      |
|                              | F. particulada           | -0,22                              | <b>-0,59</b> | -0,06        | -0,29      |

**TABLA V.2.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre la especiación de metales en agua y en sedimentos para la Bahía de Cádiz (*nivel de probabilidad  $p < 0,05$* ).

| Fracciones metálicas en agua |                          | Fracciones metálicas en sedimentos |              |              |              |
|------------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
|                              |                          | F. intercambiable                  | F. reducible | F. oxidable  | F. residuo   |
| As                           | F. inorgánica            | -0,40                              | -0,25        | 0,02         | -0,21        |
|                              | F. orgánica              | -0,18                              | 0,18         | -0,09        | -0,36        |
|                              | F. particulado           | -0,11                              | -0,30        | 0,34         | -0,48        |
| Pb                           | F. lábil inorgánica      |                                    |              |              |              |
|                              | F. lábil orgánica        | -0,18                              | 0,09         | -0,13        | -0,58        |
|                              | F. poco lábil inorgánica |                                    |              |              |              |
|                              | F. poco lábil orgánica   | -0,45                              | -0,04        | -0,27        | -0,45        |
|                              | F. no lábil              | -0,14                              | -0,07        | -0,43        | -0,75        |
|                              | F. particulada           | 0,59                               | -0,39        | 0,07         | -0,25        |
| Cd                           | F. lábil inorgánica      | 0,35                               | 0,45         | 0,24         | 0,57         |
|                              | F. lábil orgánica        | 0,24                               | 0,26         | 0,19         | 0,22         |
|                              | F. poco lábil inorgánica | 0,53                               | -0,08        | -0,47        | 0,04         |
|                              | F. poco lábil orgánica   | 0,47                               | 0,13         | -0,13        | 0,53         |
|                              | F. no lábil              | 0,03                               | 0,39         | 0,30         | -0,16        |
|                              | F. particulada           | 0,32                               | -0,43        | 0,07         | 0,18         |
| Cu                           | F. lábil inorgánica      | -0,25                              | -0,25        | 0,45         | 0,09         |
|                              | F. lábil orgánica        | 0,45                               | 0,23         | 0,47         | <b>0,79</b>  |
|                              | F. poco lábil inorgánica | -0,17                              | -0,17        | 0,20         | -0,20        |
|                              | F. poco lábil orgánica   | 0,45                               | -0,34        | <b>0,79</b>  | 0,16         |
|                              | F. no lábil              | -0,61                              | 0,20         | -0,61        | -0,57        |
|                              | F. particulada           | -0,20                              | -0,61        | 0,00         | -0,39        |
| Zn                           | F. lábil inorgánica      | 0,24                               | -0,04        | <b>-0,87</b> | -0,37        |
|                              | F. lábil orgánica        | 0,61                               | 0,43         | -0,20        | 0,20         |
|                              | F. poco lábil inorgánica | 0,40                               | 0,13         | -0,49        | 0,40         |
|                              | F. poco lábil orgánica   | 0,07                               | 0,04         | 0,33         | 0,52         |
|                              | F. no lábil              | 0,32                               | 0,29         | 0,04         | <b>-0,86</b> |
|                              | F. particulada           | -0,57                              | -0,57        | -0,32        | 0,39         |



Con objeto de encontrar posibles vías de acceso común de los metales pesados en peces, se ha realizado un estudio de correlación entre el contenido metálico total en peces con el contenido total de los metales en agua y sedimento. Tal y como se ha procedido anteriormente, se ha efectuado el test de Shapiro-Wilk a las distribuciones de datos, tras lo cual se realizó el estudio empleando para ello la correlación no paramétrica de Spearman ya que las distribuciones no eran normales. Este estudio de correlación se ha llevado a cabo diferenciando las distribuciones de datos por especie y por tejidos. Los datos obtenidos se resumen en la **Tabla V.3**. En este caso, solo se han considerado las correlaciones positivas que son las que darían lugar a procesos de bioacumulación en los tejidos de peces.

En esta tabla se observa como en la zona de Huelva el mayor número de correlaciones positivas se establecen para *Solea senegalensis*, especialmente para los metales Cd y Cu. Se establecen correlaciones positivas entre el contenido de Cd en los peces y en los sedimentos para los tejidos de branquia y músculo y con el Cd de las aguas para hígados. En el caso del Cu estas correlaciones se invierten, el contenido de Cu en agua correlaciona con su contenido en los tejidos de branquias y músculo mientras que el contenido de Cu en sedimento está relacionado positivamente con su nivel en hígado, siendo las correlaciones con el contenido de las aguas las que muestran mayor coeficiente de correlación. También hay que destacar la relación significativa que se da entre el contenido de Zn en los sedimentos y en músculo. En el caso de la *Sparus aurata* solo se ha detectado una relación positiva, la que existe entre el contenido de Cd en los sedimentos y en músculo. Por tanto, estos resultados muestran a la *Solea senegalensis* como la especie más sensible en Huelva. En la Bahía de Cádiz se establecen mayor cantidad de correlaciones. Cabe destacar la importancia que adquiere el As en la Bahía ya que su contenido en las aguas y los sedimentos muestra correlación positiva con todos los tejidos de la *Sparus aurata* y con el músculo de *Solea senegalensis*, aunque destaca la correlación entre el contenido de As en hígado de dorada y en los sedimentos. Igualmente, se han detectados correlaciones significativas para Pb, cuyo contenido en sedimento está relacionado con el contenido en branquia e hígado de las doradas y con el contenido en hígado de lenguado, y cuyo contenido en agua correlaciona con el contenido en branquia de lenguado. El Cu en agua está correlacionado con su contenido en hígado de los lenguados y el Cu de los sedimentos tiene relación con el contenido de Cu del músculo de las doradas. Por último se han

detectado correlaciones positivas entre el contenido de Zn en las aguas y su contenido en los tejidos de branquias de ambas especies y de músculo de lenguados, aunque se observan mayores coeficientes de correlación en el caso de los lenguados. Estos resultados presentan a la dorada como la especie más sensible en esta zona. En la Bahía de Cádiz no se observan procesos de bioacumulación de Cd en los tejidos de los peces, lo cual se puede deber a las bajas concentraciones de este metal tanto en las aguas como en los sedimentos de la Bahía.

**TABLA V.3.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre el contenido total de los metales en peces y el contenido total en agua y sedimento (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| ÁREA   | PEZ      | TEJIDO   | FASE      | As          | Pb          | Cd          | Cu          | Zn          |
|--------|----------|----------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Huelva | Dorada   | Branquia | agua      | -0,56       | -0,17       | -0,06       | 0,24        | 0,11        |
|        |          |          | sedimento | -0,48       | -0,11       | 0,07        | -0,10       | -0,15       |
|        |          | Hígado   | agua      | -0,18       | 0,03        | 0,53        | -0,40       | 0,17        |
|        |          |          | sedimento | -0,29       | 0,48        | 0,24        | -0,23       | -0,14       |
|        |          | Músculo  | agua      | -0,12       | -0,24       | 0,54        | 0,06        | 0,16        |
|        |          |          | sedimento | -0,29       | -0,10       | <b>0,61</b> | -0,49       | 0,53        |
|        | Lenguado | Branquia | agua      | -0,48       | -0,25       | 0,05        | <b>0,54</b> | 0,07        |
|        |          |          | sedimento | -0,47       | -0,32       | <b>0,24</b> | -0,04       | -0,01       |
|        |          | Hígado   | agua      | -0,26       | -0,04       | <b>0,26</b> | -0,14       | -0,15       |
|        |          |          | sedimento | -0,25       | -0,06       | 0,13        | <b>0,32</b> | 0,05        |
|        |          | Músculo  | agua      | -0,38       | 0,04        | -0,03       | <b>0,64</b> | -0,30       |
|        |          |          | sedimento | -0,23       | -0,25       | <b>0,28</b> | -0,03       | <b>0,32</b> |
| Cádiz  | Dorada   | Branquia | agua      | <b>0,35</b> | -0,03       | -0,58       | -0,37       | <b>0,49</b> |
|        |          |          | sedimento | <b>0,55</b> | <b>0,50</b> | -0,44       | 0,04        | -0,27       |
|        |          | Hígado   | agua      | <b>0,45</b> | 0,21        | 0,18        | -0,31       | -0,39       |
|        |          |          | sedimento | <b>0,64</b> | <b>0,41</b> | -0,06       | -0,34       | -0,14       |
|        |          | Músculo  | agua      | <b>0,59</b> | -0,60       | 0,05        | -0,46       | -0,44       |
|        |          |          | sedimento | <b>0,56</b> | 0,20        | -0,28       | <b>0,52</b> | 0,02        |
|        | Lenguado | Branquia | agua      | -0,38       | <b>0,34</b> | -0,06       | -0,23       | <b>0,57</b> |
|        |          |          | sedimento | -0,21       | 0,11        | 0,06        | 0,23        | -0,35       |
|        |          | Hígado   | agua      | 0,26        | -0,21       | 0,23        | <b>0,58</b> | -0,24       |
|        |          |          | sedimento | 0,21        | <b>0,48</b> | 0,03        | -0,69       | -0,19       |
|        |          | Músculo  | agua      | <b>0,34</b> | -0,29       | -0,11       | -0,21       | <b>0,58</b> |
|        |          |          | sedimento | <b>0,43</b> | 0,10        | -0,23       | 0,15        | -0,46       |

Una vez estudiado el intercambio de metales entre la columna de agua y los sedimentos, y la concentración de los metales pesados en peces, se ha procedido a estudiar el enriquecimiento de metales en la biota a partir de los metales presentes en los sedimentos y las aguas.

Los estudios de bioacumulación de diferentes contaminantes pueden ayudar en la identificación de la biodisponibilidad de compuestos químicos en sedimentos y agua en ecosistemas marinos, ya que, al contrario del análisis químico, la bioacumulación proporciona una medida de los contaminantes biodisponibles [VAN GESTEL y VAN BRUMMELEN, 1996; MARTÍN-DÍAZ y col., 2006]. Para estimar la habilidad de las especies para bioacumular los metales del medio en el cual viven y por tanto la biodisponibilidad de éstos, se ha estudiado el enriquecimiento o concentración de los metales en la biota por medio del factor de bioconcentración (BCF) y el factor de acumulación biota-sedimento (BASF). Estos factores se expresan como la relación entre la concentración del metal en el organismo y en el agua y sedimento, respectivamente [VAN DER OOST y col., 2003; NGUYEN y col., 2005]. Sin embargo, la relación que existe entre la concentración de un metal en un organismo y su concentración en el medio que le rodea, es una relación dinámica que depende de la razón que se establece entre la incorporación y eliminación del metal [SZEFER, 2002]. Por eso, se ha estudiado además el grado de discriminación entre los metales en las especies respecto a sus niveles en el medio, mediante el empleo del factor de discriminación (FD), el cual proporciona información sobre la biodisponibilidad específica y selectiva de los metales trazas en el medio acuático.

En la **Tabla V.4** se presentan los factores de bioconcentración biota-agua, calculados como media de cada tejido analizado por zona de estudio (Huelva/Cádiz). En esta tabla se observa como los procesos de bioconcentración ocurren principalmente en el hígado, aunque hay metales como el Zn que muestran bioconcentración en todos los tejidos de los peces de Cádiz, y el As que es el único metal que se bioconcentra en todos los tejidos estudiados tanto en peces de Huelva como de Cádiz. En el caso de Pb no se observa bioconcentración en los peces desde el agua. También se puede observar como la bioconcentración que sufren los peces suelen ser mayor en Cádiz que en Huelva, excepto para Pb, que es el único metal que los factores de bioconcentración son mayores en Huelva. En general, se observa que no

existe una diferencia entre las especies estudiadas en los factores de bioconcentración BCF, ya que en general la bioconcentración biota-agua de una de las especies no es superior a la otra para todos los metales. Así, los factores de bioconcentración de As y Cd son superiores en lenguado para la mayoría de tejidos, y el factor de bioconcentración de Zn es mayor en doradas. Para el resto de los metales no existe una clara diferencia entre las especies, siendo para algunos tejidos la bioacumulación mayor en lenguados, por ejemplo la acumulación de Cu en branquias, y para otros mayores en dorada, como la acumulación de Cu en hígado de peces de Huelva.

**TABLA V.4.** Factores de bioconcentración pez/agua (BCF) ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco/  $\mu\text{g L}^{-1}$  agua).

| PEZ      | TEJIDO   | ÁREA   | As    | Pb   | Cd   | Cu    | Zn    |
|----------|----------|--------|-------|------|------|-------|-------|
| Dorada   | Branquia | Huelva | 3,83  | 0,70 | 0,07 | 0,28  | 0,90  |
|          |          | Cádiz  | 19,84 | 0,27 | 0,02 | 0,41  | 5,87  |
|          | Hígado   | Huelva | 1,72  | 0,27 | 1,37 | 14,18 | 2,50  |
|          |          | Cádiz  | 13,35 | 0,07 | 1,37 | 6,26  | 11,16 |
|          | Músculo  | Huelva | 3,79  | 0,03 | 0,00 | 0,05  | 0,44  |
|          |          | Cádiz  | 29,37 | 0,03 | 0,11 | 0,18  | 3,16  |
| Lenguado | Branquia | Huelva | 2,63  | 0,80 | 0,27 | 0,22  | 0,59  |
|          |          | Cádiz  | 37,58 | 0,12 | 0,18 | 4,68  | 5,04  |
|          | Hígado   | Huelva | 2,81  | 0,26 | 0,81 | 9,53  | 0,77  |
|          |          | Cádiz  | 33,65 | 0,05 | 5,67 | 30,67 | 7,16  |
|          | Músculo  | Huelva | 2,19  | 0,06 | 0,01 | 0,03  | 0,20  |
|          |          | Cádiz  | 36,78 | 0,02 | 0,38 | 0,26  | 2,26  |

A partir de la **Tabla V.4**, se han resumido las tendencias de bioconcentración de cada metal para cada uno de los sistemas, así como las tendencias de bioconcentración de los metales en cada tejido en la **Tabla V.5** y la **Tabla V.6**, respectivamente. Así, se observa que hay metales como el Pb y el Cu cuya tendencia de bioconcentración depende del tejido y es independiente del tipo de pez, en el caso del Pb los mayores factores de bioconcentración se dan en branquia, luego en hígado y por último en músculo. Para el Cu la tendencia es hígado, branquia, músculo. En el caso del As, también existe una tendencia de bioconcentración en función del tejido, dado que en la mayoría de los casos la tendencia que se observa es branquia, músculo, hígado, aunque también se observa una influencia con el tipo de pez y la zona estudiada, ya que, en Huelva los mayores factores de bioconcentración se observan en los tejidos de doradas, mientras que en Cádiz son los tejidos de lenguados los que presentan mayores factores de bioconcentración. Para el Cd

se observa claramente una tendencia en función de los tejidos para los peces de Huelva, siendo la bioconcentración en hígado mayor que en branquias y ésta a su vez mayor que en músculo, sin embargo esta tendencia no se mantiene para los peces capturados en Cádiz, aunque en hígado se observan los mayores factores de bioconcentración. Normalmente, en los estudios de bioacumulación metálica los tejidos empleados con más frecuencia son hígado y músculo, el primero por ser el tejido donde tiene lugar las reacciones metabólicas relacionadas de incorporación o eliminación de los metales y donde normalmente se acumula los metales, y el segundo por ser la parte del pez que se consume y por tanto está relacionado con el paso de los metales a través de la cadena trófica, sin embargo en este estudio se comprueba que la bioacumulación en las branquias es más importante para As y Pb.

Los metales que tienen mayores valores de BCF en doradas son As, Zn y Cu, y casi siempre en este orden. En el caso de los lenguados, el As es también el metal que más se bioconcentra desde las aguas, seguido del Zn. Se observa también, que en la mayoría de los casos y para las dos especies estudiadas, Cd y Pb son los metales que menos se bioconcentran desde las aguas.

**TABLA V.5.** Tendencias en los factores de bioconcentración de los tejidos para cada metal estudiado.

|    |        |                             |
|----|--------|-----------------------------|
| As | Huelva | DB > DM > LH > LB > LM > DH |
|    | Cádiz  | LB > LM > LH > DM > DB > DH |
| Pb | Huelva | LB > DB > DH > LH > LM > DM |
|    | Cádiz  | DB > LB > DH > LH > DM > LM |
| Cd | Huelva | DH > LH > LB > DB > LM > DM |
|    | Cádiz  | LH > DH > LM > LB > DM > DB |
| Cu | Huelva | DH > LH > DB > LB > DM > LM |
|    | Cádiz  | LH > DH > LB > DB > LM > DM |
| Zn | Huelva | DH > DB > LH > LB > DM > LM |
|    | Cádiz  | LH > DB > LB > DM > LM > DH |

D- dorada; L- lenguado; B- branquia; M-músculo; H- hígado

**TABLA V.6.** Tendencias en los factores de bioconcentración de los metales por tejidos de cada especie estudiada.

|    |        |                        |
|----|--------|------------------------|
| DB | Huelva | Zn > Pb > As > Cu > Cd |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cu > Pb > Cd |
| DH | Huelva | Zn > As > Cu > Cd > Pb |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cu > Cd > Pb |
| DM | Huelva | As > Zn > Cu > Pb > Cd |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cu > Cd > Pb |
| LB | Huelva | As > Pb > Zn > Cd > Cu |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cu > Cd > Pb |
| LH | Huelva | Cu > As > Cd > Zn > Pb |
|    | Cádiz  | As > Cu > Zn > Cd > Pb |
| LM | Huelva | As > Zn > Pb > Cu > Cd |
|    | Cádiz  | As > Zn > Pb > Cu > Cd |

D- dorada; L- lenguado; B- branquia; M-músculo; H- hígado

En la **Tabla V.7** se presentan los factores de acumulación biota-sedimento, calculado como media de cada tejido analizados por zona de estudio (Huelva/Cádiz).

**TABLA V.7.** Factores de acumulación biota sedimento (BASF) ( $\text{mg Kg}^{-1}$  peso seco/ $\text{mg Kg}^{-1}$  sedimento).

| PEZ      | TEJIDO   | ÁREA   | As    | Pb    | Cd     | Cu    | Zn    |
|----------|----------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|
| Dorada   | Branquia | Huelva | 0,056 | 0,012 | 0,022  | 0,007 | 0,098 |
|          |          | Cádiz  | 1,334 | 0,110 | 0,046  | 0,044 | 1,565 |
|          | Hígado   | Huelva | 0,030 | 0,003 | 0,790  | 0,282 | 0,233 |
|          |          | Cádiz  | 1,032 | 0,031 | 1,762  | 0,724 | 2,871 |
|          | Músculo  | Huelva | 0,062 | 0,001 | 0,002  | 0,001 | 0,040 |
|          |          | Cádiz  | 2,165 | 0,013 | 0,190  | 0,018 | 0,702 |
| Lenguado | Branquia | Huelva | 0,042 | 0,012 | 0,069  | 0,006 | 0,072 |
|          |          | Cádiz  | 2,138 | 0,045 | 0,264  | 0,455 | 1,443 |
|          | Hígado   | Huelva | 0,047 | 0,004 | 0,215  | 0,207 | 0,094 |
|          |          | Cádiz  | 2,089 | 0,009 | 10,351 | 4,808 | 1,592 |
|          | Músculo  | Huelva | 0,036 | 0,001 | 0,001  | 0,001 | 0,022 |
|          |          | Cádiz  | 2,595 | 0,005 | 0,363  | 0,023 | 0,661 |

Los resultados de la **Tabla V.7** muestran que la bioacumulación de metal en la Bahía de Cádiz es mayor que en la Ría de Huelva, a pesar de que la concentración metálica en los sedimentos de Huelva es superior a los de

Cádiz, lo cual refleja la relación dinámica que existe entre la concentración de un metal en un organismo y su concentración en el medio que le rodea, y que se ha descrito anteriormente. La bioacumulación de metal ha alcanzado los valores más altos para la bioacumulación de Cd y Cu en hígado y la bioacumulación de As en músculo. La bioacumulación a partir de los sedimentos si parece tener diferencias entre las especies. De modo que en lenguados, que es una especie bentónica cuyo hábitat está ligado al fondo de los sistemas acuáticos, se observa unos factores BSAF más altos de As, Cd y Cu que las doradas en casi todos los tejidos. Únicamente, en el caso de Zn, el factor BSAF es mayor en doradas, tal y como sucedía para el factor BCF en aguas. Para Pb, que es el metal con los factores BSFA más bajos, la bioacumulación en doradas y lenguados es del mismo orden. Por tanto, se puede concluir que la bioacumulación a partir de los sedimentos es mayor en las especies bentónicas que en las pelágicas, mientras que para la bioacumulación a partir del contenido metálico en agua las diferencias entre las especies son menos evidentes.

Al igual que se ha realizado anteriormente, se han incluido las tendencias de acumulación de cada metal en los distintos tejidos, así como las tendencias de todos los metales en cada tejido analizado. Ambas tendencias se muestran de forma resumida en la **Tabla V.8** y la **Tabla V.9**, respectivamente.

**TABLA V.8.** Tendencias en los factores de acumulación biota-sedimento (BSAF) de los tejidos para cada metal estudiado.

|    |        |                             |
|----|--------|-----------------------------|
| As | Huelva | DM > DB > LH > LB > LM > DH |
|    | Cádiz  | LM > DM > LB > LH > DB > DH |
| Pb | Huelva | LB > DB > LH > DH > LM > DM |
|    | Cádiz  | DB > LB > DH > DM > LH > LM |
| Cd | Huelva | DH > LH > LB > DB > DM > LM |
|    | Cádiz  | LH > DH > LM > LB > DM > DB |
| Cu | Huelva | DH > LH > DB > LB > DM > LM |
|    | Cádiz  | LH > DH > LB > DB > LM > DM |
| Zn | Huelva | DH > DB > LH > LB > DM > LM |
|    | Cádiz  | DH > LH > LB > DB > DM > LM |

D- dorada; L- lenguado; B- branquia; M-músculo; H- hígado

**TABLA V.9.** Tendencias en los factores de acumulación biota-sedimento (BASF) por tejidos de cada especie estudiada.

|    |        |                        |
|----|--------|------------------------|
| DB | Huelva | Zn > As > Cd > Pb > Cu |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cd > Cu > Pb |
| DH | Huelva | Cd > Cu > Zn > As > Pb |
|    | Cádiz  | Zn > Cd > As > Cu > Pb |
| DM | Huelva | As > Zn > Cd > Cu > Pb |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cd > Cu > Pb |
| LB | Huelva | Zn > Cd > As > Pb > Cu |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cu > Cd > Pb |
| LH | Huelva | Cd > Cu > Zn > As > Pb |
|    | Cádiz  | Cd > Cu > As > Zn > Pb |
| LM | Huelva | As > Zn > Pb = Cd = Cu |
|    | Cádiz  | As > Zn > Cd > Cu > Pb |

D- dorada; L- lenguado; B- branquia; M-músculo; H- hígado

Para algunos de los metales estudiados se observan tendencias en los valores de BASF entre los tejidos, así para el Pb y el Cu los tejidos se pueden ordenar en función de los valores de BASF como branquia > hígado > músculo para el Pb, y hígado > branquia > músculo en el caso del Cu, para ambas especies de peces. En el caso de Cd en los peces capturados en Huelva y del Zn para los peces capturados en Cádiz los tejidos se pueden ordenar en función de los valores de BASF como hígado > branquia > músculo. A diferencia de lo observado para los valores de bioconcentración en las aguas, no se observan diferencias entre las especies para los valores de BASF en ninguno de los metales estudiados. Hay que indicar, que para hígado se observan los valores más altos de BASF, tal y como ocurría con el factor BCF en aguas, razón por la que es ampliamente utilizado en estudios de bioacumulación, pero en el caso de Pb la mayor bioacumulación se observa en branquias. Además es importante destacar que el As es el único metal que presenta una mayor acumulación en músculo con respecto a los otros tejidos, con el riesgo para la salud que ello conlleva dada la elevada toxicidad del As y ser el músculo la parte que preferentemente consume la población, sobre todo al recordar que los niveles de As en músculo hallados en este trabajo superaban los límites legales. Cuando se compara la tendencia de los valores BASF por tejidos se observan diferencias entre las especies estudiadas. Así, los metales que muestran mayores valores de acumulación en doradas son casi siempre As, Zn y Cd, no necesariamente en este orden. Sin embargo, en



el caso de los lenguados las tendencias en todas las ocasiones son más variadas. Hay que indicar que Pb es en la mayoría de los casos el metal que menos se acumula desde el sedimento.

Como se ha indicado anteriormente, junto con los factores de concentración o enriquecimiento de los metales en los peces a partir de su concentración en el medio, se ha evaluado la discriminación realizada por los peces entre los metales, usando para ello la siguiente expresión [SZEFER y SZEFER, 1991]:

$$FD = \frac{[C_a / C_b]_x}{[C_a / C_b]_s}$$

donde  $(C_a/C_b)_x$  es el cociente de la concentración de dos metales en el organismo y  $(C_a/C_b)_s$  es el cociente de esa concentración en el medio abiótico, agua o sedimento. Valores del factor de discriminación próximos a la unidad indican que la acumulación en el organismo de los dos metales estudiados no difieren entre sí, mientras que valores muy superiores o inferiores a la unidad indican que existe una discriminación de unos de los metales frente a otro en su incorporación y acumulación en el organismo.

En la **Tabla V.10** y **V.11** se muestran los valores del factor de discriminación entre metales a partir de su contenido en agua y sedimento, respectivamente, para ambas especies y todos los tejidos.

A partir de los valores del factor de discriminación (**Tabla V.10**) se pueden ordenar los metales por grado de incorporación o afinidad para la acumulación en los peces a partir del contenido metálico en las aguas como sigue  $As > Zn > Cu > Pb = Cd$ . Así, la afinidad de As es mayor al resto de los metales en todos los casos excepto para Cu que se incorpora en el hígado de los peces en igual medida o dos veces más que As. Otras excepciones a esta clasificación serían la afinidad de Pb en branquias de peces de Huelva que es del orden o superior a la observada para Cu y Zn, así como la mayor afinidad de Cu respecto a Zn en tejidos de Hígado. Con respecto a Pb y Cd, la incorporación de Pb respecto a Cd es mayor en branquias y músculo mientras que la incorporación de Cd es mayor en hígado, siendo la discriminación entre ambos metales del orden de 1 a 10 veces. Al comparar ambos sistemas, se observa que la mayor discriminación entre los metales se establece en la Bahía de Cádiz, así la discriminación entre los metales con mayor y menor

afinidad es del orden de miles de veces, como por ejemplo los factores de discriminación As/Pb, As, Cd y Pb/Zn. Hay que indicar que el orden de afinidad indicado anteriormente es prácticamente el mismo para ambas especies en los dos sistemas, y este orden no siempre coincide con la biodisponibilidad de los metales en agua que se ha estudiado en el capítulo III. Esto parece indicar que la forma química y biodisponibilidad de los metales es un factor importante, pero existen otros factores bióticos que intervienen en la incorporación y acumulación de los metales en los peces.

**TABLA V.10.** Valores medios y desviación estándar del factor de discriminación para As, Pb, Cd, Cu y Zn relativo al contenido en agua.

| PEZ | AREA | VALOR     | As/Pb | As/Cd | As/Cu | As/Zn | Pb/Cd | Pb/Cu | Pb/Zn | Cd/Cu | Cd/Zn | Cu/Zn |
|-----|------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DB  | H    | $\bar{X}$ | 5,6   | 156   | 13    | 5,3   | 16    | 4,4   | 0,8   | 0,5   | 0,08  | 0,3   |
|     |      | SD        | 7,2   | 230   | 12    | 7,1   | 16    | 3,6   | 0,4   | 0,5   | 0,04  | 0,2   |
|     | C    | $\bar{X}$ | 202   | 1336  | 48    | 3,0   | 11    | 0,5   | 0,04  | 0,05  | 0,004 | 0,08  |
|     |      | SD        | 263   | 1644  | 45    | 1,8   | 9     | 0,5   | 0,04  | 0,02  | 0,002 | 0,04  |
| DH  | H    | $\bar{X}$ | 14    | 2,3   | 0,3   | 1,5   | 0,2   | 0,05  | 0,2   | 0,2   | 0,8   | 8,2   |
|     |      | SD        | 19    | 2,9   | 0,2   | 2,4   | 0,2   | 0,06  | 0,2   | 0,3   | 1,0   | 12,9  |
|     | C    | $\bar{X}$ | 382   | 25    | 3,1   | 1,6   | 0,1   | 0,01  | 0,006 | 0,2   | 0,09  | 0,6   |
|     |      | SD        | 347   | 29    | 1,8   | 1,2   | 0,0   | 0,01  | 0,006 | 0,2   | 0,04  | 0,3   |
| DM  | H    | $\bar{X}$ | 110   | 1526  | 77    | 18    | 10    | 0,9   | 0,11  | 0,1   | 0,01  | 0,1   |
|     |      | SD        | 115   | 2010  | 75    | 32    | 5,1   | 0,5   | 0,08  | 0,1   | 0,01  | 0,1   |
|     | C    | $\bar{X}$ | 7724  | 6707  | 265   | 15    | 2,6   | 0,1   | 0,008 | 0,5   | 0,05  | 0,09  |
|     |      | SD        | 11031 | 13085 | 249   | 14    | 4,6   | 0,2   | 0,007 | 0,5   | 0,06  | 0,08  |
| LB  | H    | $\bar{X}$ | 3,3   | 35    | 10    | 10    | 5,9   | 3,7   | 1,9   | 1,4   | 0,42  | 0,5   |
|     |      | SD        | 4,2   | 59    | 13    | 16    | 7,3   | 2,2   | 1,8   | 1,0   | 0,14  | 0,4   |
|     | C    | $\bar{X}$ | 373   | 158   | 8,4   | 4,8   | 0,9   | 0,10  | 0,03  | 0,08  | 0,03  | 0,7   |
|     |      | SD        | 723   | 138   | 5,6   | 6,0   | 0,6   | 0,08  | 0,03  | 0,06  | 0,02  | 0,9   |
| LH  | H    | $\bar{X}$ | 11    | 8,1   | 0,4   | 9     | 0,5   | 0,03  | 0,5   | 0,08  | 1,1   | 17    |
|     |      | SD        | 12    | 13,7  | 0,8   | 14    | 0,3   | 0,02  | 0,5   | 0,03  | 0,5   | 17    |
|     | C    | $\bar{X}$ | 1399  | 109   | 1,5   | 5,8   | 0,2   | 0,001 | 0,009 | 0,1   | 0,3   | 6,6   |
|     |      | SD        | 914   | 99    | 1,2   | 4,2   | 0,3   | 0,002 | 0,014 | 0,1   | 0,6   | 5,7   |
| LM  | H    | $\bar{X}$ | 40    | 1785  | 79    | 29    | 32    | 2,4   | 0,6   | 0,2   | 0,02  | 0,2   |
|     |      | SD        | 39    | 3368  | 62    | 50    | 39    | 1,3   | 0,6   | 0,2   | 0,01  | 0,2   |
|     | C    | $\bar{X}$ | 9130  | 4605  | 282   | 20    | 0,5   | 0,1   | 0,005 | 1,5   | 0,1   | 0,1   |
|     |      | SD        | 9991  | 9132  | 218   | 20    | 1     | 0,1   | 0,004 | 2,4   | 0,1   | 0,1   |

D- dorada; L- lenguado; B- branquia; M-músculo; H- hígado; C- Cádiz; H- Huelva

**TABLA V.11.** Valores medios y desviación estándar del factor de discriminación para As, Pb, Cd, Cu y Zn relativo al contenido en sedimento.

| PEZ | AREA | VALOR     | As/Pb | As/Cd | As/Cu | As/Zn | Pb/Cd | Pb/Cu | Pb/Zn | Cd/Cu | Cd/Zn | Cu/Zn |
|-----|------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DB  | H    | $\bar{X}$ | 4,0   | 2,3   | 8,2   | 0,6   | 0,6   | 2,5   | 0,12  | 4,8   | 0,2   | 0,09  |
|     |      | SD        | 3,0   | 1,6   | 6,6   | 0,9   | 0,2   | 2,7   | 0,08  | 5,7   | 0,2   | 0,12  |
|     | C    | $\bar{X}$ | 43    | 53    | 32    | 1,0   | 3,4   | 3,0   | 0,09  | 1,3   | 0,03  | 0,03  |
|     |      | SD        | 76    | 72    | 26    | 1,0   | 5,1   | 4,5   | 0,13  | 1,5   | 0,03  | 0,01  |
| DH  | H    | $\bar{X}$ | 11,3  | 0,1   | 0,2   | 0,13  | 0,01  | 0,02  | 0,01  | 2,0   | 3,0   | 1,2   |
|     |      | SD        | 9,6   | 0,1   | 0,2   | 0,08  | 0,01  | 0,02  | 0,01  | 1,7   | 4,8   | 1,0   |
|     | C    | $\bar{X}$ | 61    | 0,9   | 2,3   | 0,5   | 0,03  | 0,08  | 0,02  | 2,8   | 0,7   | 0,2   |
|     |      | SD        | 38    | 0,4   | 1,9   | 0,4   | 0,03  | 0,12  | 0,03  | 1,8   | 0,6   | 0,2   |
| DM  | H    | $\bar{X}$ | 96    | 48    | 45    | 1,4   | 0,6   | 0,5   | 0,01  | 1,1   | 0,03  | 0,03  |
|     |      | SD        | 44    | 25    | 29    | 0,9   | 0,5   | 0,3   | 0,01  | 0,8   | 0,03  | 0,01  |
|     | C    | $\bar{X}$ | 1176  | 324   | 140   | 3,0   | 1,5   | 0,8   | 0,02  | 8,5   | 0,3   | 0,03  |
|     |      | SD        | 1593  | 708   | 102   | 1,4   | 3,2   | 1,1   | 0,02  | 8     | 0,3   | 0,02  |
| LB  | H    | $\bar{X}$ | 3,1   | 0,5   | 6,1   | 0,6   | 0,1   | 2,0   | 0,14  | 12    | 0,9   | 0,08  |
|     |      | SD        | 2,2   | 0,5   | 5,7   | 0,7   | 0,1   | 1,9   | 0,10  | 6,3   | 0,3   | 0,04  |
|     | C    | $\bar{X}$ | 97    | 6,6   | 4,8   | 2,2   | 0,4   | 0,5   | 0,04  | 1,6   | 0,3   | 0,5   |
|     |      | SD        | 202   | 6,3   | 1,6   | 3,1   | 0,5   | 0,4   | 0,05  | 1,5   | 0,3   | 0,7   |
| LH  | H    | $\bar{X}$ | 13    | 0,2   | 0,3   | 0,6   | 0,02  | 0,02  | 0,04  | 1,1   | 2,6   | 2,7   |
|     |      | SD        | 14    | 0,1   | 0,4   | 0,8   | 0,01  | 0,02  | 0,03  | 0,8   | 2,3   | 1,3   |
|     | C    | $\bar{X}$ | 301   | 3,3   | 2,1   | 1,2   | 0,03  | 0,003 | 0,007 | 1,0   | 3,1   | 2,5   |
|     |      | SD        | 346   | 2,0   | 4,2   | 0,7   | 0,03  | 0,003 | 0,007 | 2,3   | 7,6   | 1,6   |
| LM  | H    | $\bar{X}$ | 49    | 36    | 53    | 1,7   | 0,8   | 1,1   | 0,04  | 1,6   | 0,05  | 0,03  |
|     |      | SD        | 27    | 22    | 38    | 1,4   | 0,5   | 0,6   | 0,03  | 0,7   | 0,03  | 0,02  |
|     | C    | $\bar{X}$ | 1373  | 218   | 129   | 4,2   | 0,3   | 0,3   | 0,008 | 20    | 0,84  | 0,04  |
|     |      | SD        | 1710  | 511   | 85    | 3,1   | 0,7   | 0,3   | 0,008 | 26    | 0,98  | 0,03  |

D- dorada; L- lenguado; B- branquia; M-músculo; H- hígado; C- Cádiz; H- Huelva

Los factores de discriminación mostrados en la **Tabla V.11**, permiten clasificar los metales en función de su afinidad o capacidad de incorporación a los peces. En este caso, y a diferencia de lo observado en la discriminación a partir de la concentración metálica en las aguas, los metales se clasifican de forma diferente en Cádiz y Huelva. Así, Se observa el siguiente orden de afinidades de la acumulación de los metales en Cádiz  $As > Zn > Cd > Pb > Cu$ . Mientras, en la Ría de Huelva se observa además diferente afinidad en función

del tipo de tejido, de este modo, Zn es el metal con mayor afinidad en branquias y músculo, seguido de As, Cd, Cu y Pb, pero en hígado los metales se ordenan según su afinidad del siguiente modo  $Cd > Cu > Zn > As > Pb$ . En este caso, la afinidad de los metales en hígado de los peces de Huelva es similar al orden de biodisponibilidad establecido a partir de su especiación para los metales en los sedimentos. Al igual que lo observado para el factor de discriminación en agua, la mayor discriminación se establece en la Bahía de Cádiz, entre aquellos metales que tienen una mayor afinidad y los que tienen una menor, por ejemplo entre As y Pb o entre Zn y Pb con una discriminación entre ellos del orden de mil veces.

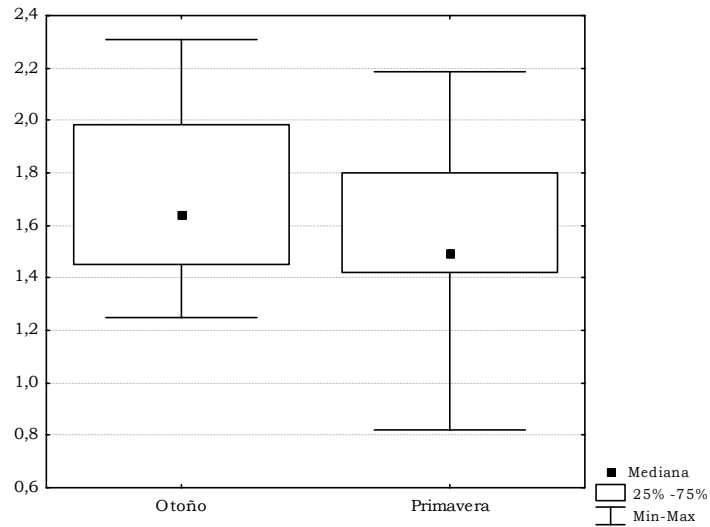
Por último, en este capítulo se ha estudiado la respuesta de los organismos bioindicadores de este estudio a la contaminación por metales pesados del medio mediante el empleo de biomarcador. Los biomarcadores son los cambios medibles, ya sean bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a la exposición a un contaminante, y que constituyen una herramienta sensible para la medida de los efectos biológicos en la evaluación de la calidad medioambiental [LAMA y GRAY., 2003]. En este estudio se ha empleado como biomarcador el factor de condición (FC), parámetro que se emplea en los estudios de biomonitorización como un primer bioindicador de la exposición y efectos de un contaminante o para obtener información de las reservas energéticas del organismo. Aunque el factor de condición no sea un parámetro muy sensible y pueda estar afectado por otra serie de factores (p.e: la estación del año, enfermedades, nivel nutricional), su bajo coste y la facilidad y rapidez de su uso hace de este parámetro una valiosa herramienta como indicador del nivel de desarrollo o salud del organismo [LINDE-ARIAS y col., 2008]. El factor de condición (FC) expresa, en peces, la relación volumétrica en función del peso, según la siguiente expresión matemática [DEVILLER y col., 2005; KÖHLER y col., 2007]:

$$FC = \frac{P}{L^3} * 100$$

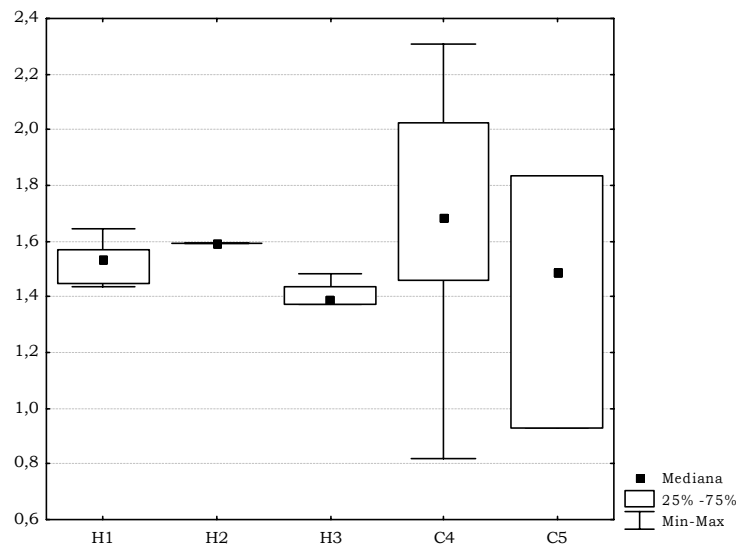
donde P es el peso del pez medido en gramos y L la longitud expresada en centímetros.

Los valores del factor de condición para doradas se han representado gráficamente mediante representación de Box-Whisker en la **Figura V.1** y

**Figura V.2**, agrupando los valores por estaciones y por puntos de muestreo respectivamente.



**FIGURA V.1.** Caja de -Whisker del factor de condición de doradas para las estaciones de otoño y primavera.



**FIGURA V.2.** Caja de Whisker del factor de condición de doradas para los puntos de muestreo.

En las figuras anteriores parece observarse diferencias para el factor de condición de doradas entre estaciones y puntos de muestreo. Así, el factor de condición es mayor en los peces capturados en otoño, y mayor para los peces de la Bahía de Cádiz. Con objeto de comprobar estas observaciones, se ha estudiado la influencia estacional y espacial del FC, empleándose para ello el análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) dado que los valores de FC no se ajustan a una distribución normal, **Tabla V.12** y **Tabla V.13**, respectivamente. Los resultados que se muestran en estas tablas confirman las observaciones realizadas anteriormente, de modo que existen diferencias estadísticas significativas para el FC entre los peces capturados en otoño y primavera, como también existen diferencias significativas entre los distintos puntos de muestreo.

**TABLA V.12.** *Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto estacional en el factor de condición de doradas (grado de libertad 1, 56 casos y nivel de significación  $p<0,05$ ).*

|                     | H            | SIG.         |
|---------------------|--------------|--------------|
| Factor de condición | <b>6,966</b> | <b>0,008</b> |

**TABLA V.13.** *Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del factor de condición de doradas respecto a los puntos de muestreo (grado de libertad 4, 56 casos y nivel de significación  $p<0,05$ ).*

|                     | H             | SIG.     |
|---------------------|---------------|----------|
| Factor de condición | <b>26,067</b> | <b>0</b> |

Para estudiar entre cuales de los puntos de muestreo se establecen las diferencias arriba comentadas, se ha realizado el análisis a posteriori de comparación múltiple no paramétrico.

**TABLA V.14.** Análisis de Comparación Múltiple de Medias de dos colas del factor de condición de doradas respecto a los puntos de muestreo (*nivel de significación  $p < 0,05$* ).

| PUNTO DE MUESTREO | H1           | H2 | H3           | C4           |
|-------------------|--------------|----|--------------|--------------|
| H2                | 1            |    |              |              |
| H3                | 1            | 1  |              |              |
| C4                | <b>0,014</b> | 1  | <b>0,003</b> |              |
| C5                | 1            | 1  | 1            | <b>0,041</b> |

Después de estudiar la influencia estacional y espacial en el factor de condición de las doradas se puede concluir que: el factor de condición de las doradas muestra diferencias significativas entre las distintas estaciones del año, lo cual puede ser debido al propio ciclo biológico natural de las doradas, mostrando factores de condición más altos en otoño. Como se ha explicado en el capítulo II, al realizar la descripción de la especie, en otoño los individuos maduros migran hacia el mar abierto para la reproducción, por lo tanto es en otoño cuando las doradas pueden haber alcanzado su máximo desarrollo. También existe diferencias significativas para este índice biológico respecto a los puntos de muestreo, en concreto existen diferencias entre los puntos de muestreo H1 y C4, H3 y C4, y C4 con C5, es decir el factor de condición de las doradas de C4, que son aquellas criadas en estero, es significativamente diferente a la mayoría de los otros puntos de muestreo. Como se observa en la **Figura V.2** el factor de condición de los peces de C4 es superior al de los peces de los otros puntos, tal y como es de esperar en peces criados para el consumo humano.

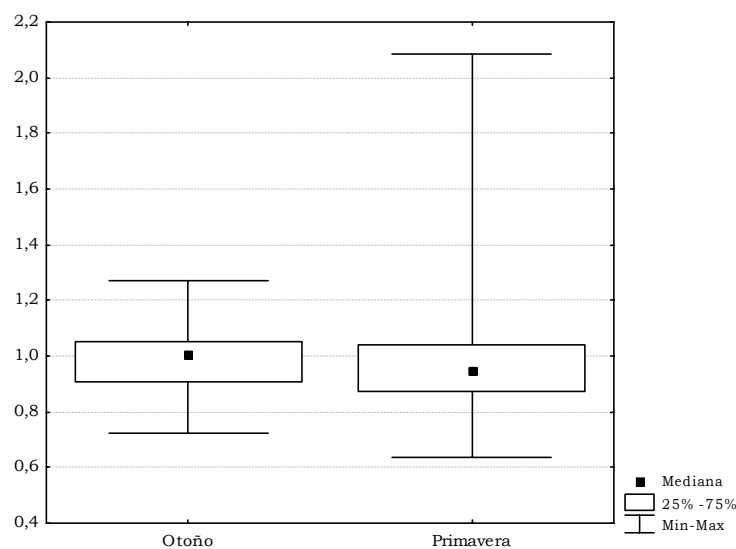
A continuación, se ha estudiado la respuesta del biomarcador empleado en este estudio (FC) en doradas, con la concentración metálica en el medio. Para ello se ha realizado la correlación (no paramétrica) entre el contenido metálico en los tejidos de las doradas y su factor de condición, cuyos resultados se muestran en la **Tabla V.15**. A partir de esta tabla, se deduce que existe una gran correlación entre el contenido de los metales en los tejidos de branquias, hígado y músculo con el factor de condición de la dorada, que se traduce en el elevado número de correlaciones significativas encontradas, aunque con unos coeficientes de correlación no muy elevados en casi todos los casos inferiores a 0,5. En el hígado se observan correlaciones

para todos los metales estudiados, en las branquias correlaciones con el contenido de As, Pb y Cu, y por último en músculo correlaciones con los niveles de Pb y Zn. Todas estas correlaciones son de carácter negativo, es decir, la acumulación de estos metales en los distintos tejidos de la dorada se relaciona con una disminución en la relación peso/longitud del pez, lo que parece indicar que la acumulación de estos metales podría afectar al desarrollo del pez.

**TABLA V.15.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en branquias, hígado y músculo de dorada (en mg Kg<sup>-1</sup>) con el factor de condición (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

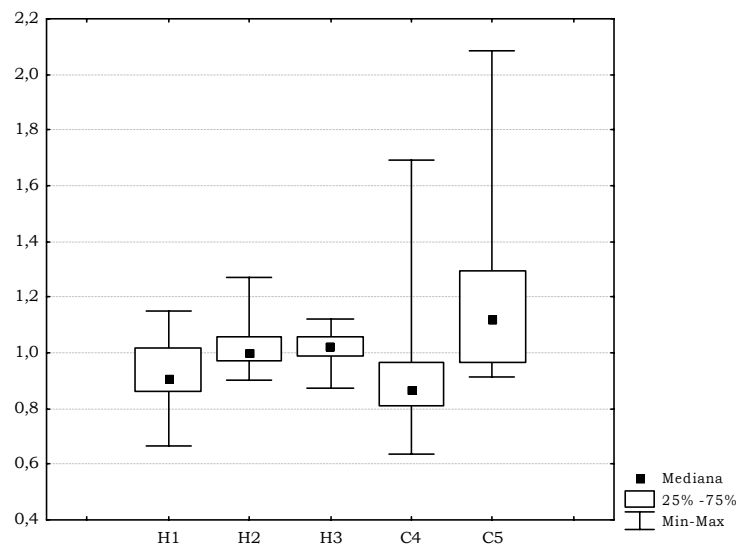
| TEJIDO   | As           | Pb           | Cd           | Cu           | Zn           |
|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Branquia | <b>-0,34</b> | <b>-0,31</b> | -0,03        | <b>-0,27</b> | -0,09        |
| Hígado   | <b>-0,32</b> | <b>-0,40</b> | <b>-0,52</b> | <b>-0,33</b> | <b>-0,32</b> |
| Músculo  | -0,10        | <b>-0,39</b> | 0,15         | -0,05        | <b>-0,41</b> |

En la **Figura V.3** y **Figura V.4**, se muestran los valores de factor de condición obtenidos para la otra especie estudiada en este trabajo, *Solea senegalensis*, agrupados por estaciones y por puntos de muestreo respectivamente.



**FIGURA V.3.** Caja de Whisker del factor de condición de lenguados para las estaciones de otoño y primavera.





**FIGURA V.4.** Caja de Whisker del factor de condición de lenguados para los puntos de muestreo.

En el caso de los lenguados, gráficamente se aprecia una mayor variedad de valores de factor de condición en los peces capturados en primavera, aunque los valores intermedios sean comparables en ambas estaciones. Otra diferencia con las doradas se observa al comparar los puntos de muestreo, los lenguados del estero de los Desamparados (C4) son los que tienen unos valores de FC más bajos, mientras que los más altos se observan en los peces capturados en C5. Las diferencias de los valores de FC entre lenguados de los distintos puntos de muestreo parecen ser menores que las observadas para doradas. A continuación, se ha estudiado la influencia estacional y espacial del FC mediante el análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA), dado las características de normalidad de los valores FC, cuyos resultados se muestran en las Tablas **V.16** y **V.17**.

**TABLA V.16.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del efecto estacional en el factor de condición de lenguados (grado de libertad 1, 117 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

|                     | H            | SIG.         |
|---------------------|--------------|--------------|
| Factor de condición | <b>7,228</b> | <b>0,007</b> |

**TABLA V.17.** Análisis de Kruskal-Wallis (ANOVA) del factor de condición de lenguados respecto a los puntos de muestreo (grado de libertad 4, 117 casos y **nivel de significación  $p < 0,05$** ).

|                     | H             | SIG.     |
|---------------------|---------------|----------|
| Factor de condición | <b>91,517</b> | <b>0</b> |

Así, para los lenguados también se observan diferencias estadísticas entre el factor de condición de los peces en otoño y primavera, de manera que en primavera se da una mayor variedad de valores para el factor de condición entre los peces capturados. Tal y como ha ocurrido al estudiar las doradas, se han hallado diferencias significativas para el FC entre los distintos puntos de muestreos. Por tanto, para estudiar entre cuales de los puntos de muestreo se establecen estas diferencias, se ha realizado el análisis a posteriori de comparación múltiple no paramétrico (**Tabla V.18**), encontrándose diferencias significativas para el factor de condición de los lenguados entre los puntos de muestreo, dándose estas diferencias entre los puntos H1 y H2, H1 y H3, H1 y C5, H2 y C4, H3 y C4 y por último entre C4 y C5. Es decir, se establecen diferencias entre los puntos de muestreo con H1 y con C4, donde los peces tienen los factores de concentración más pequeños, con el resto de los puntos.

**TABLA V.18.** Análisis de Comparación Múltiple de Medias de dos colas del factor de condición de lenguados respecto a los puntos de muestreo (**nivel de significación  $p < 0,05$** ).

| PUNTO DE MUESTREO | H1       | H2       | H3       | C4       |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|
| H2                | <b>0</b> |          |          |          |
| H3                | <b>0</b> | 1,00     |          |          |
| C4                | 0,09     | <b>0</b> | <b>0</b> |          |
| C5                | <b>0</b> | 0,48     | 1,00     | <b>0</b> |

Por último, se ha estudiado la respuesta del biomarcador, factor de condición en lenguados, con la concentración metálica en el medio. Para lo cual, se ha utilizado la correlación (no paramétrica) entre el contenido metálico en los tejidos de las doradas y su factor de condición, cuyos resultados se recogen en la **Tabla V.19**.

**TABLA V.19.** Coeficientes de la correlación de Spearman entre los niveles de metales en branquias, hígado y músculo de lenguado (en mg Kg<sup>-1</sup>) con el factor de condición (**nivel de probabilidad  $p < 0,05$** ).

| TEJIDO   | As           | Pb          | Cd          | Cu    | Zn    |
|----------|--------------|-------------|-------------|-------|-------|
| Branquia | 0,02         | <b>0,21</b> | <b>0,22</b> | 0,15  | 0,01  |
| Hígado   | <b>-0,21</b> | 0,07        | 0,02        | -0,18 | 0,02  |
| Músculo  | <b>-0,34</b> | <b>0,19</b> | 0,14        | 0,04  | -0,02 |

En el caso de los lenguados, se dan un número mucho menor de correlaciones que las observadas en doradas, de modo que en el hígado solo el contenido de As correlaciona de manera negativa con el factor de condición, sin embargo existe una correlación con el contenido de As en músculo que no se observaba en doradas. Otras diferencias con respecto a las doradas es la existencia de correlaciones positivas, las cuales se dan con el contenido de Pb y Cd en branquia y con el contenido de Pb en músculo. Sin embargo, todas las correlaciones observadas para lenguados tienen un coeficiente de correlación muy bajo, de manera que se puede concluir que no se ha encontrado una relación clara entre la contaminación metálica y el factor de condición en lenguados. Esto es consistente con otros estudios en los que se ha investigado la relación entre la contaminación metálica y el factor de condición en peces [BERVOETS y BLUST, 2003].



CAPÍTULO VI: ESTUDIO DE  
LOS PATRONES DE  
CONTAMINACIÓN METÁLICA  
ESPACIAL, TEMPORAL Y POR  
COMPARTIMENTOS EN EL  
GOLFO DE CÁDIZ MEDIANTE  
LA APLICACIÓN DEL ANÁLISIS  
TUCKER DE TRES VÍAS



En este estudio medioambiental se han obtenido una gran cantidad de datos, con los cuales se ha descrito la distribución y biodisponibilidad de metales pesados en dos ecosistemas del Golfo de Cádiz mediante la aplicación de análisis de comparación, análisis de correlación y el uso de factores de bioconcentración y discriminación. En este capítulo se ha completado este trabajo con el estudio de los patrones de contaminación metálica en los dos ecosistemas del Golfo de Cádiz, aplicando para ello un método de N-vías (método Tucker3).

El rápido desarrollo que han sufrido las técnicas analíticas, así como el uso de automuestreadores, la aplicación de métodos de análisis multielementales y multicomponentes, ha aumentado la cantidad de datos que se pueden obtener a partir de estudios medioambientales, los cuales pueden describir la variación espacial y temporal de numerosos parámetros físicos, químicos y biológicos. El problema surge entonces cuando se requiere extraer la información útil e interpretable, capaz de explicar los patrones de comportamiento de los datos. Por eso se hace necesario el empleo de métodos de reducción, entre los que se encuentran los métodos de N-vías o entradas. En particular, el método Tucker ha generado un interés creciente en los últimos años [BARBIERI y col., 1999; PARDO y col., 2004; ASTEL y col., 2008]. Estos métodos son elegidos a menudo cuando hay que analizar conjuntos de datos ordenados en tres o más vías, lo cual ocurre en la mayoría de los estudios medioambientales. El interés en los métodos de N-vías radica en su capacidad para encontrar complejas relaciones que puedan existir entre los datos, las cuales no pueden ser fácilmente detectadas con los métodos de dos-vías clásicos, como el análisis de componentes principales [STANIMIROVA y col., 2006].

El método Tucker3, propuesto por Leyard Tucker en 1966 e identificado dentro de las técnicas diseñadas para análisis de datos a tres vías, se considera como una generalización del Análisis de Componentes Principales (PCA) y la descomposición en Valores Singulares (SVD). Hace uso de cálculos matriciales y procedimientos de descomposición para la estimación de los parámetros del modelo y su correspondiente representación gráfica en espacios de dimensión inferior a la estructura tridimensional de datos original. Mediante este método es posible explicar la información de un conjunto de datos de tres-vías resumiendo las entidades asociadas por medio de unos pocos componentes, y describir las interacciones entre las tres fuentes de variación presentes en los datos mediante el uso de una estructura

tridimensional de datos central ( $\underline{G}$ ) estimada por el modelo [AMAYA y PACHECO, 2002].

Desde el punto de vista estadístico, una tabla de tres entradas (individuos, variables, ocasiones [ $n \times p \times k$ ]) puede considerarse como una sucesión de  $k$  tablas de dos entradas (individuos, variables [ $n \times p$ ]). Los datos que constituyen las tablas de tres entradas se clasifican según tres índices, denominados modos o entradas y se expresan mediante la notación  $x_{ijk}$ :

$i = 1 \dots I$ , expresa los individuos, objetos o unidades

$j = 1 \dots J$ , expresa las variables o características

$k = 1 \dots K$ , indica las situaciones, ocasiones o momentos de tiempo

La tabla global resultante  $X = \{x_{ijk}\}$  puede considerarse como una sucesión de tablas de doble entrada  $X^k$ , cada una de las cuales está referida a un momento (situación u ocasión) diferente. Por ello, se puede expresar como la sucesión de  $X^1, X^2, \dots, X^k$  donde cada  $X^k$  viene representada por el elemento  $x_{ij}$ . Cuando cada  $X^k$  está formada por los mismos  $n$  individuos y las mismas  $p$  variables, la global de tres entradas se denomina “*three-way data array*” (estructura tridimensional de datos). En la mayoría de las ocasiones, cuando se requiere eliminar diferencias de nivel y escala, las variables se centran y estandarizan.

Resulta esencial antes del análisis, determinar el número de componentes por medio de los cuales se resumirán las entidades de cada una de las entradas. Una manera de hacerlo es establecer los porcentajes de ajuste del modelo para cada posible combinación de número de componentes en las tres entradas. Entonces, se establece como la mejor combinación de número de componentes aquella que presenta poca variación en el ajuste del modelo al considerar un componente adicional en alguna de las entradas del modelo.

El porcentaje de ajuste del modelo se calcula como el cociente entre las sumas de cuadrados de los elementos de la estructura tridimensional de datos central ( $\underline{G}$ ) estimada por el modelo y la estructura tridimensional de datos original, como se presenta a continuación [AMAYA y PACHECO, 2002].



$$\frac{\|G\|^2}{\|X\|^2} \times 100\% = \frac{\sum_{p=1}^P \sum_{q=1}^Q \sum_{r=1}^R g_{pqr}^2}{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K x_{ijk}^2} \times 100\%$$

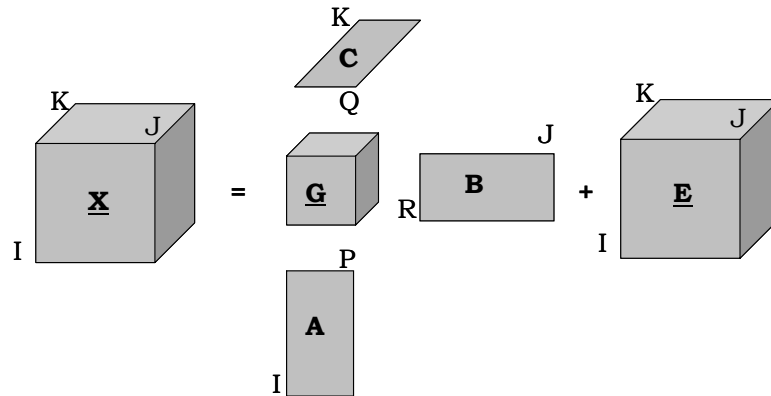
El modelo Tucker3 descompone una tabla o matriz de tres entradas  $X^{(I \times J \times K)}$  en cuatro conjuntos de parámetros, teniendo en cuenta la extracción de diferente número de componentes en cada uno de los modos. Los parámetros corresponden a una matriz  $A^{(I \times P)}$  que resume mediante  $P$  componentes las  $I$  entidades del modo A (sujetos), una matriz  $B^{(J \times Q)}$  que resume mediante  $Q$  componentes las  $J$  entidades del modo B(variables), una matriz  $C^{(K \times R)}$  que resume mediante  $R$  componentes las  $K$  entidades del modo C (ocasiones) y una matriz central de tres entradas  $G^{(P \times Q \times R)}$ , generada con base en las tres matrices componentes. Esta matriz estimada por el modelo, denominada *matriz core*, describe las interacciones entre los tres modos. El modelo Tucker3 se define en términos de una triple sumatoria entre los elementos contenidos en cada una de las matrices componentes y de la estructura tridimensional de datos central, más un término de error correspondiente a cada estimación de los valores de la estructura tridimensional de datos original [KIERS, 2000; AMAYA y PACHECO, 2002].

$$x_{ijt} = \sum_{p=1}^P \sum_{q=1}^Q \sum_{r=1}^R a_{ip} b_{jq} c_{tr} g_{pqr} + e_{ijt}$$

El modelo puede ser descrito en términos matriciales teniendo en cuenta alguna de las formas de desdoblamiento de las estructuras tridimensional de datos,  $\underline{X}$ ,  $\underline{G}$  y  $\underline{E}$ , que representan respectivamente a los datos original, la matriz *core* y los errores del modelo.

$$X_a = A G_a (C^T \otimes B^T) + E_a$$

Por ejemplo, en la fórmula se describe el desdoblamiento de la estructura tridimensional original por el modo A, que corresponde al producto entre la matriz componente A, la matriz *core* desdoblada por el modo A y el producto Kronecker ( $\otimes$ ) entre las transpuestas de las matrices componentes B y C. En la **Figura VI.1** se muestra una explicación gráfica del modelo.



**FIGURA VI.1.** Explicación gráfica del modelo Tucker3.

### **VI.1. ESTUDIO ESPACIO-TEMPORAL DE LAS VARIABLES FÍSICOQUÍMICAS Y LOS VALORES METÁLICOS EN AGUA Y SEDIMENTO**

---

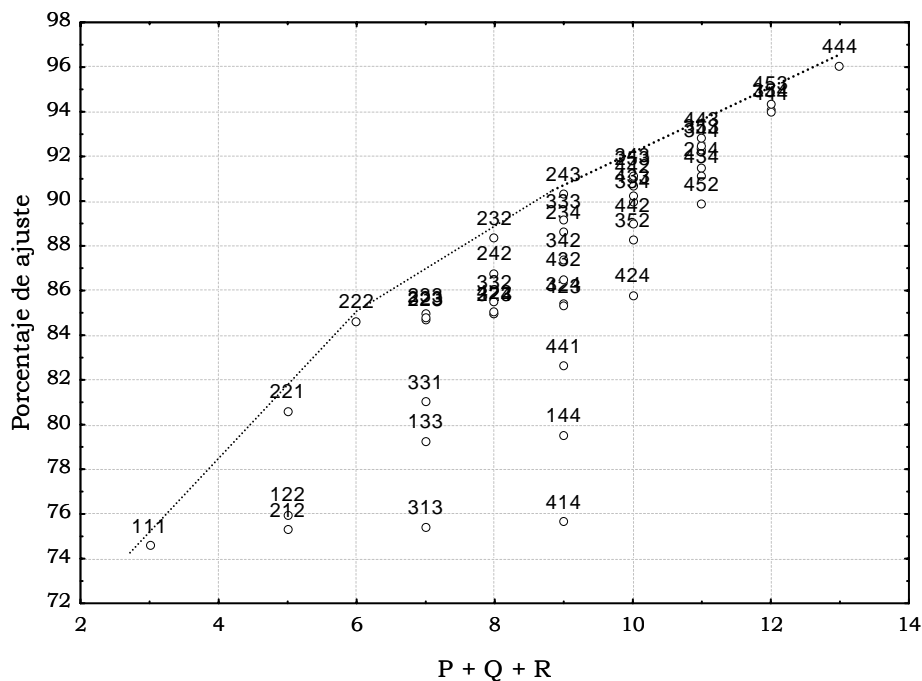
Se ha utilizado el análisis estadístico multivariante para el estudio conjunto de la distribución espacial y temporal tanto de los parámetros físico-químicos como de los valores metálicos en agua y sedimento.

Para ello se construye una tabla de tres entradas: puntos de muestreo, variables, campañas de muestreo [ $n \times p \times k$ ]. Hay que recordar, tal y como se ha explicado anteriormente, que las tablas de tres entradas se consideran como una sucesión de tablas de doble entrada, cada una referida en este caso a una campaña de muestreo diferente, y cada tabla formada por los mismos puntos de muestreo y variables. Es decir, han de tener la misma dimensión. Por ello, dado que no se disponen de datos para el punto C5 en la tercera campaña de muestreo, se han seleccionado solo los datos correspondientes a los puntos de muestreo H1, H2, H3 y C4 para el modo A. En el modo B las variables incluidas han sido temperatura, pH,  $O_2$  disuelto, salinidad, sólidos en suspensión, carbono orgánico total (COT), % materia orgánica en los

sedimentos, el contenido disuelto y total en agua de As, Pb, Cd, Cu, Zn y el contenido total en sedimentos de estos metales, para las cuatro campañas de muestreo llevadas a cabo en este trabajo que constituyen el modo C.

Debido a la elevada diferencia entre los parámetros se normaliza la tabla de tres modos respecto al modo B (variables), para ello se desdobra la tabla de tres entradas por el modo B y se divide cada elemento por la correspondiente desviación.

Una manera para seleccionar el número óptimo de componentes para el modelo es calcular la varianza explicada (porcentaje de ajuste) para cada una de las posibles combinaciones de números de componentes ( $P \times Q \times R$ ), empezando en este caso desde el modelo [1 1 1] al modelo [4 10 4]. En la **Figura VI.2** se representa el porcentaje de ajuste de cada modelo frente a la suma de los componentes del modelo “ $P+Q+R$ ”.



**FIGURA VI.2.** Porcentaje de ajuste empleando modelos de tres vías Tucker para diferentes complejidades a el estudio de las muestras de agua y sedimento..

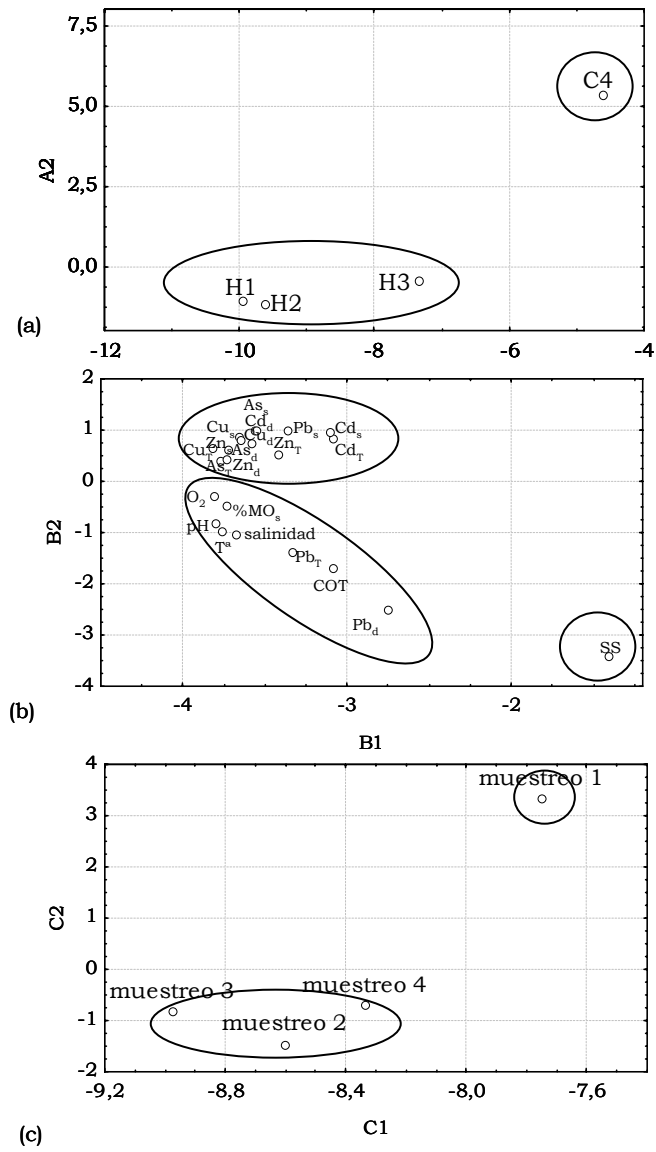
La envolvente de esta representación se puede utilizar como guía para elegir el número óptimo de componentes del modelo, de tal modo que los puntos donde se observa un cambio de pendiente para la envolvente son aquellos modelos que se pueden considerar adecuados. En este caso se ha seleccionado un modelo de componentes [2 2 2], el cual explica el 84,62% de la varianza de los datos. Un incremento en el número de componentes del modelo no compensaría el incremento de varianza explicada con el aumento en la complejidad del modelo.

En la **Figura VI.3** se representan las entidades para cada uno de los modos tras la descomposición (2,2,2) de Tucker3. Esta representación permite realizar una aproximación al grado de similitud que existe entre las entidades de cada modo, antes de calcular los parámetros del modelo.

En la representación de las entidades para el modo A (**Figura VI.3a**) se observa como los puntos de muestreo se distribuyen en dos grupos claramente diferenciados, por un lado los puntos situados en Huelva mientras que el único punto de muestreo de Cádiz introducido en el estudio permanece independiente, quedando claramente diferenciada dos situaciones distintas una para Huelva y otra para Cádiz. Para los puntos de Huelva, se observa una mayor proximidad entre los puntos de muestreos situados en el Tinto y en el Odiel, mostrando diferencias con el punto de muestreo situado en la desembocadura.

La representación de las entidades para el modo B (**Figura VI.3b**), muestra la distribución de las variables estudiadas principalmente en dos grupos, en el primer grupo se pueden incluir la mayoría de los parámetros físico-químicos, los cuales aparecen muy relacionados con el contenido de Pb en las aguas, tanto total como disuelto; en el segundo grupo se pueden incluir casi todas las variables relacionadas con el contenido metálico en agua y sedimento. Por último, cabe indicar que el contenido en sólidos en suspensión de las aguas no aparece relacionado con ninguna otra variable.

En la **Figura VI.3c** se muestra la representación de las entidades para el modo C (campañas de muestreo). Al contrario de lo que se podía esperar no se observa una distribución entre campañas de otoño y campañas de primavera, sino se observa una cierta uniformidad entre las campañas a excepción del muestreo 1



**FIGURA VI.3.** Representación de las entidades tras la descomposición (2,2,2) de Tucker3: (a) modo del punto de muestreo (dos componentes); (b) modo de las variables (dos componentes) (d-disuelto en agua; T-total en agua; S-sedimento; SS-sólido en suspensión). (c) modo de las campañas de muestreo (dos componentes).

Las estimaciones finales de los parámetros del modelo obtenidas al aplicar el proceso iterativo del algoritmo Tucker3, con un ajuste del 84,84%, son presentadas a continuación. Así en la **Tabla VI.1** se observa que los puntos de muestreo de Huelva tienen cargas altas para el segundo componente, mientras el punto de muestreo de Cádiz tiene una carga elevada para el primer componente.

**TABLA VI.1.** Matriz de los componentes del modo A: para los puntos de muestreo.

| PUNTO DE MUESTREO | A1    | A2   |
|-------------------|-------|------|
| H1                | -0,1  | 0,63 |
| H2                | -0,12 | 0,61 |
| H3                | -0,01 | 0,46 |
| C4                | 0,99  | 0,14 |

En la **Tabla VI.2**, que representa los dos componentes obtenidos para el modo variable, se observa como casi todas las variables “metales” obtienen cargas positivas para el componente segundo, excepto para el Pb en agua que tiene elevadas cargas en el componente 1. Para los parámetros fisico-químicos se obtienen cargas positivas para los dos componentes. Cabe destacar como el contenido de Pb disuelto en agua y el contenido de sólidos en suspensión presentan un comportamiento similar mostrando ambos las cargas más elevadas para el componente 1.

Con respecto a los componentes del modo C (campanas de muestreo) mostrados en la **Tabla VI.3**, se observa como el muestreo 1 queda altamente descrito por la componente primera, mientras que el resto de los muestreos presentan altas cargas para la componente segunda.

Finalmente, el cuarto parámetro del modelo corresponde a la estructura tridimensional de datos central  $\underline{G}$ , que describe toda la información teniendo en cuenta la interacción entre los componentes obtenidos para cada modo. Los elementos más importantes en orden de magnitud son los que representan la interacción entre los componentes A1, B1 y C2 y el que representan la interacción entre los componentes A2, B2 y C1, con los que se relaciona los parámetros fisico-químicos, en Cádiz durante los tres últimos

muestreos y el contenido metálico en Huelva en el primer muestreo, respectivamente

**TABLA VI.2.** Matriz de los componentes del modo B: para las variables.

| VARIABLE         | B1    | B2   |
|------------------|-------|------|
| T <sup>a</sup>   | 0,19  | 0,21 |
| pH               | 0,17  | 0,21 |
| O <sub>2</sub>   | 0,08  | 0,23 |
| Salinidad        | 0,2   | 0,2  |
| Sol. Susp.       | 0,59  | 0,01 |
| COD              | 0,31  | 0,15 |
| % M.O. sedimento | 0,11  | 0,22 |
| As total         | -0,04 | 0,24 |
| As disuelto      | -0,08 | 0,24 |
| Pb total         | 0,26  | 0,17 |
| Pb disuelto      | 0,45  | 0,11 |
| Cd total         | -0,12 | 0,21 |
| Cd disuelto      | -0,15 | 0,24 |
| Cu total         | -0,08 | 0,25 |
| Cu disuelto      | -0,1  | 0,23 |
| Zn total         | -0,06 | 0,22 |
| Zn disuelto      | -0,04 | 0,24 |
| As sed           | -0,14 | 0,24 |
| Pb sed           | -0,14 | 0,23 |
| Cd sed           | -0,14 | 0,21 |
| Cu sed           | -0,12 | 0,24 |
| Zn sed           | -0,11 | 0,24 |

**TABLA VI.3.** Matriz de los componentes del modo C: para los muestreos.

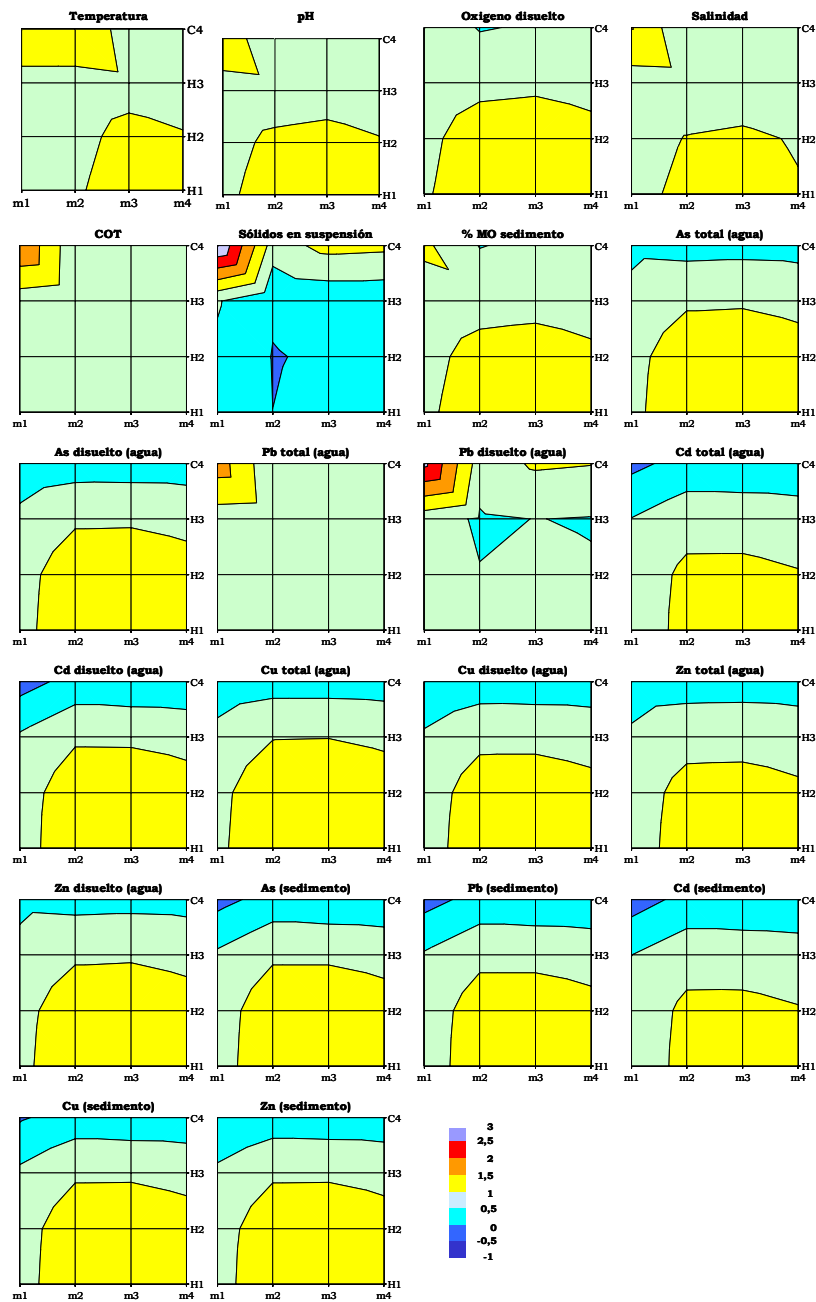
| MUESTREO | C1    | C2   |
|----------|-------|------|
| 1        | 0,95  | 0,29 |
| 2        | -0,28 | 0,57 |
| 3        | -0,11 | 0,56 |
| 4        | -0,09 | 0,52 |

**TABLA VI.4.** Matriz core  $\underline{G}$  del modelo Tucker3 [2 2 2].

| COMPONENTE | C1    |      | C2   |       |
|------------|-------|------|------|-------|
|            | B1    | B2   | B1   | B2    |
| A1         | 0,16  | 4,24 | 8,08 | -0,46 |
| A2         | -0,84 | 6,39 | 3,11 | 2,71  |

Con las cargas correspondientes a los componentes de los modos A, B y C y con la matriz  $\underline{G}$  del modelo se puede calcular la contribución de cada punto de muestreo, para cada variable y en un muestreo determinado, como la suma de los productos de cada componente con la interacción dada por la matriz  $\underline{G}$  para cada situación posible en el modelo. Las contribuciones obtenidas se muestran para cada variable en una representación de superficie dada por los puntos de muestreo y los muestreos (**Figura VI.4**). En esta figura se observan las contribuciones para cada variable. Así en los parámetros físicos químicos se observa un patrón común para la mayoría de los parámetros, donde las contribuciones mayores se dan para los puntos de Huelva H1 y H2 en las campañas de muestreo 2, 3 y 4 y en el punto de muestreo C4 en el muestreo 1. Los parámetros físico-químicos que presentan unas contribuciones diferentes son el oxígeno disuelto, para el que las mayores contribuciones sólo se observan en los puntos H1 y H2, el carbono orgánico disuelto que tiene las contribuciones mayores en el punto C4 para el muestreo 1, lo cual resulta lógico, por tratarse de un estero donde puede haber una mayor cantidad de materia orgánica en las aguas. Un comportamiento parecido se observa para los sólidos en suspensión. Para los niveles metálicos tanto en agua como en sedimento se observa un patrón de comportamiento común en las contribuciones, presentando las mayores contribuciones en los puntos de muestreos H1 y H2 en los muestreos 2, 3 y 4 y las menores contribuciones en el punto de muestreo C4 durante el primer muestreo. Hay que indicar que para el contenido metálico en los sedimentos y para el contenido de Cd en agua cuando se observan las contribuciones más bajas del modelo, es en el punto C4 durante el primer muestreo. El patrón descrito anteriormente se observa para todos los metales salvo para Pb, el contenido de este metal en agua, tanto disuelto como particulado, muestra la contribución más importante en el punto de la Bahía de Cádiz C4, durante el primer muestreo, siendo estas la contribuciones de mayor orden del modelo junto con las observadas para los sólidos en suspensión en las mismas condiciones.





**FIGURA VI.4.** Representación de superficie de la contribución espacial y temporal para cada variable.

## **VI.2. ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y ENTRE TEJIDOS DE LOS METALES EN PECES**

---

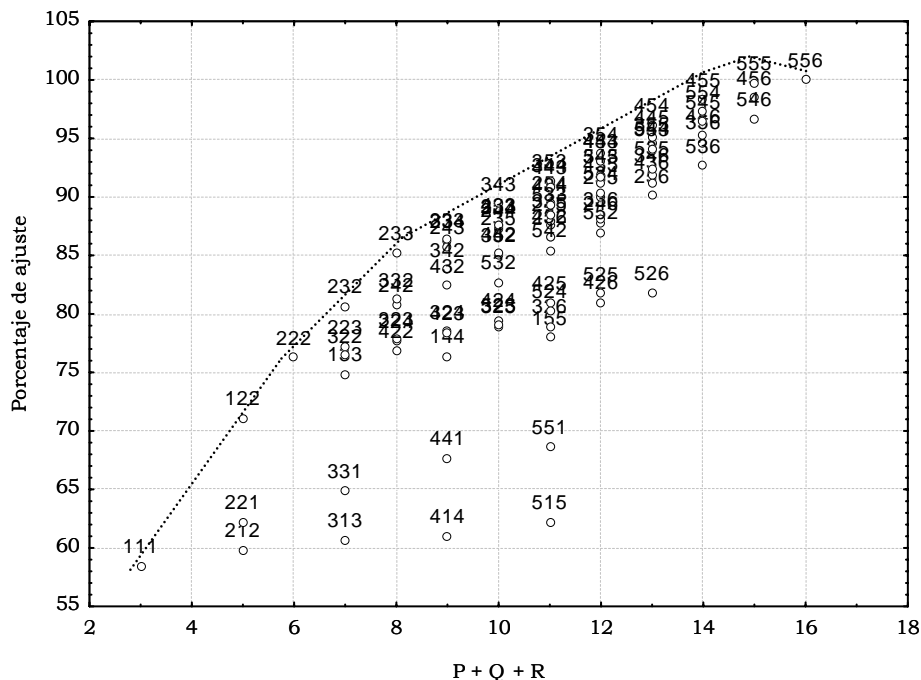
Anteriormente se ha estudiado el patrón de comportamiento espacial y temporal de los parámetros físico-químicos y del contenido metálico en aguas y sedimentos, a continuación se ha realizado un estudio similar del patrón de comportamiento de la concentración metálica en la biota (peces), desde el punto de vista espacial y por tejidos, por considerarse estos factores los más representativos en esta investigación. Con este objetivo, se ha realizado el análisis de Tucker3 a la tabla de tres entradas  $[n \times p \times K]$ , constituida por el modo A los puntos de muestreo, el modo B que son los valores medios de los metales estudiados, y el modo C los tejidos estudiados (branquias, hígado y músculo de doradas y lenguados). En este caso, como no se estudia el comportamiento temporal y al trabajar con valores medios se pueden incluir los datos correspondientes al punto C5 porque se cumple que la sucesión de tablas  $[n \times p]$  tienen todas las mismas dimensiones. Los datos han sido preprocesados normalizándolos respecto al modo B, dado que la variabilidad de los valores lo requiere, tal y como se ha descrito en el anterior apartado.

En la **Figura VI.5** se representa el porcentaje de ajuste de cada modelo frente a la suma de los componentes del modelo "P+Q+R". A partir de esta figura, se ha seleccionado un modelo de componentes  $[2 \ 3 \ 3]$ , que explica el 85,99% de la varianza de los datos, para realizar el análisis Tucker3.

En la **Figura VI.6** se representan las entidades para cada uno de los modos tras la descomposición (2,3,3) de Tucker3. En este caso, y debido a las características del modelo empleado, las gráficas tienen dos dimensiones para el modo A, tres dimensiones para el modo B, y tres dimensiones para el modo C.

En la representación de las entidades para el modo A (**Figura VI.6a**) los puntos de muestreo se distribuyen en dos grupos, los puntos de la Bahía de Cádiz que están muy próximos entre sí, y otro grupo en el que se incluyen los puntos de muestreo de la Ría de Huelva, con los puntos de muestreo H2 y H3 más próximos entre sí. Esto indica que la Bahía de Cádiz y la Ría de Huelva son dos ecosistemas perfectamente diferenciables entre sí a partir del contenido metálico en los peces. Este comportamiento es muy parecido al

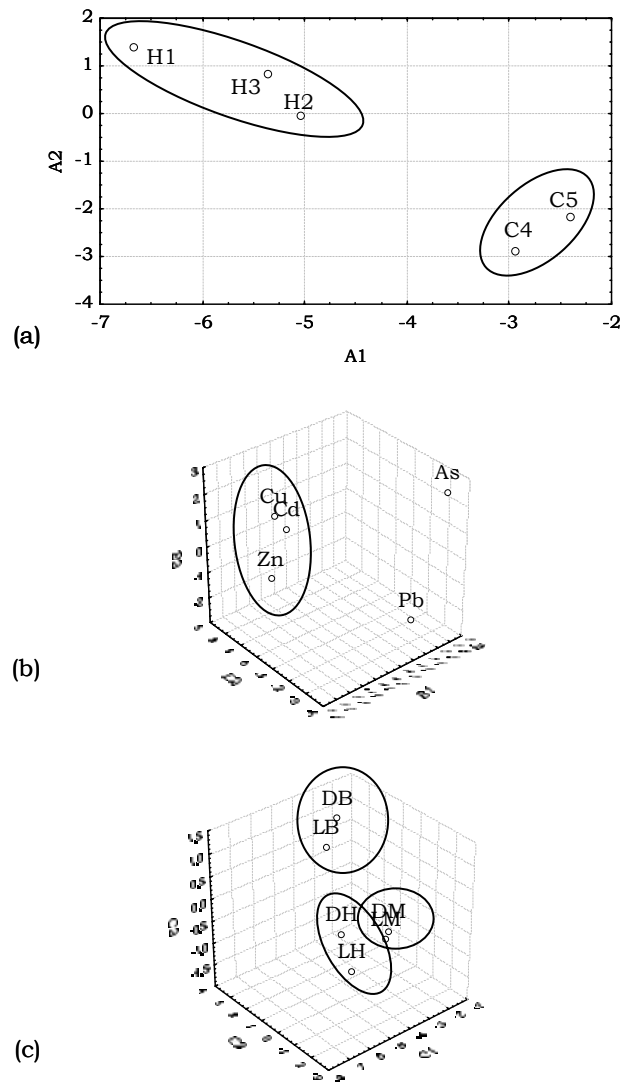
encontrado en el estudio anterior, salvo que entonces eran H1 y H2 los puntos de la Ría de Huelva que presentaban más similitud.



**FIGURA VI.5.** Porcentaje de ajuste empleando modelos de tres vías Tucker para diferentes complejidades en el estudio de la acumulación metálica en peces.

La representación de las entidades para el modo B (**Figura VI.6b**), muestra dos metales Cd y Cu, que tienen un comportamiento muy parecido en su concentración en los peces. A su vez, ambos metales tienen un comportamiento similar al Zn. Hay que recordar que Cd y Cu en su estado de oxidación +2 son isomorfos con el Zn y con un comportamiento geoquímico similar, además en la Ría de Huelva tienen un origen geoquímico común en los yacimientos mineros de los ríos Odiel y Tinto. Por eso, este comportamiento similar de los tres metales se podría relacionar con semejanzas en la biodisponibilidad o en las vías de incorporación o metabolismo de los mismos. Por su parte, Pb y As aunque puedan tener semejanzas entre sí aparecen claramente diferenciados por una de las componentes del modelo. Estas observaciones están de acuerdo con las

conclusiones alcanzadas en el capítulo III al estudiar las semejanzas entre metales en los peces al usar el análisis de conglomerados.



**FIGURA VI.6.** Representación de las entidades tras la descomposición (2,3,3) de Tucker3. (a) modo del punto de muestreo (dos componentes). (b) modo de las variables (tres componentes). (c) modo de los tejidos de peces (tres componentes).

Las entidades para el modo C (**Figura VI.6c**), muestran como existe una agrupación por tipo de tejidos y no por especie, de modo que se observa como quedan agrupados los tejidos de hígado de dorada y lenguado, ocurriendo lo mismo con los tejidos de branquias y músculo. Hay que indicar sin embargo, que los tejidos de músculo de ambas especies están muy próximos, pudiendo observarse más diferencias entre las especies para los tejidos de hígado.

Las estimaciones finales de los parámetros del modelo obtenidas al aplicar el proceso iterativo del algoritmo para los modos A, B y C para el modelo Tucker3 [2 3 3] se muestran en las **Tablas VI.5, VI.6 y VI.7** respectivamente.

A partir de las cargas obtenidas para cada componente en cada uno de los modos se puede asociar de forma más significativa cada componente con algún tipo de punto de muestreo, variable o tejido. De este modo el componente A1 está relacionado con los puntos de muestreo de la Ría de Huelva, y el componente A2 se relaciona con los puntos de muestreo de la Bahía de Cádiz. En el modo B el Pb queda muy bien explicado con el componente 1, el As con el componente 2 y el Cd y Cu tienen un comportamiento similar explicado por el componente 3, mientras que el Zn está explicado de igual manera por los tres componentes. En el modo C cada componente se puede asociar a un tipo de tejido, el componente C1 con hígado, el componente C2 se relaciona con músculo y el componente C3 se relaciona con branquias, aunque se observa que el componente C2 también muestra una carga elevada para el hígado de los lenguados.

**TABLA VI.5.** Matriz de los componentes del modo A: para los puntos de muestreo.

| PUNTO DE MUESTREO | A1   | A2    |
|-------------------|------|-------|
| H1                | 0,71 | -0,11 |
| H2                | 0,44 | 0,18  |
| H3                | 0,55 | -0,02 |
| C4                | 0    | 0,78  |
| C5                | 0,02 | 0,59  |

**TABLA VI.6.** Matriz de los componentes del modo B: para los metales analizados.

| METAL | B1   | B2   | B3   |
|-------|------|------|------|
| As    | 0,21 | 0,87 | 0,11 |
| Pb    | 0,84 | 0,22 | 0,14 |
| Cd    | 0,19 | 0,07 | 0,59 |
| Cu    | 0,11 | 0,15 | 0,62 |
| Zn    | 0,45 | 0,41 | 0,49 |

**TABLA VI.7.** Matriz de los componentes del modo C: para los tejidos analizados.

| TEJIDO | C1    | C2    | C3    |
|--------|-------|-------|-------|
| LB     | -0,07 | 0,19  | 0,66  |
| LH     | 0,43  | 0,48  | -0,07 |
| LM     | -0,13 | 0,64  | -0,06 |
| DB     | -0,04 | -0,03 | 0,73  |
| DH     | 0,88  | -0,07 | 0,11  |
| DM     | -0,1  | 0,56  | -0,04 |

D- dorada; L- lenguado; B- branquia; M-músculo; H- hígado

En la **TABLA VI.8** se recoge la estructura tridimensional de datos central G del modelo, siendo en orden de magnitud el elemento más importante el que representa la interacción entre los componentes A1, B3 y C1, que estaría relacionado con la contaminación de Cd y Cu en los tejidos de hígado de los peces de Huelva. Así mismo, también presentan órdenes de magnitud importantes los elementos que describen la interacción entre los componentes A1, B1 y C3, la interacción entre los componentes A2, B2 y C2, y la interacción entre los componentes A1, B3 y C2 los cuales estarían relacionados con la contaminación de Pb en los tejidos de branquias de los peces de Huelva, con la contaminación de As en los tejidos de músculo de los peces de Cádiz, y con la contaminación de Cd y Cu en los tejidos de hígado de los peces de Huelva, respectivamente.

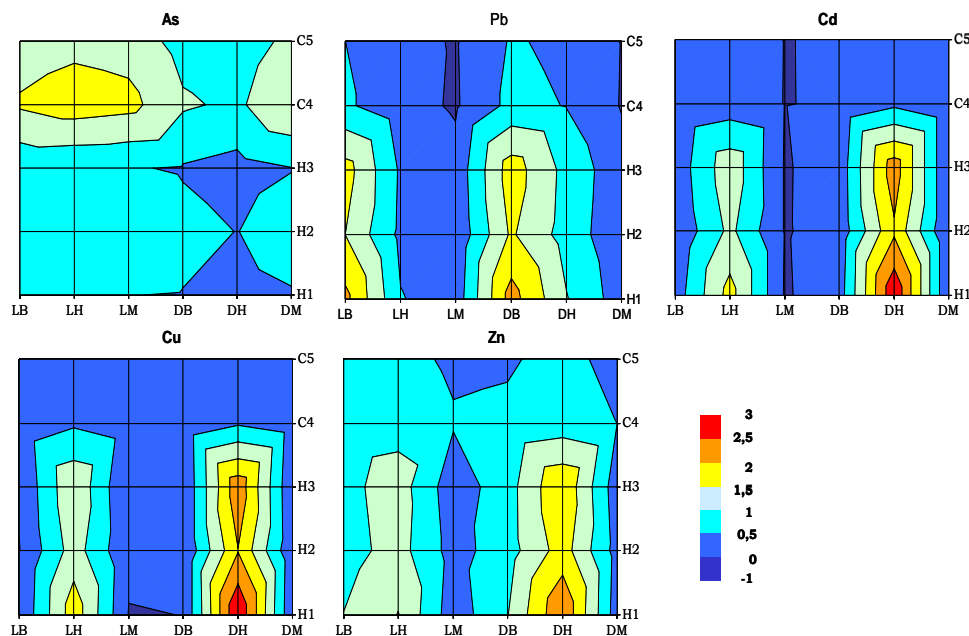
**TABLA VI.8.** Matriz core  $\underline{G}$  del modelo Tucker3 [2 3 3].

| COMPONENTE | C1   |       |      | C2    |      |       | C3   |      |       |
|------------|------|-------|------|-------|------|-------|------|------|-------|
|            | B1   | B2    | B3   | B1    | B2   | B3    | B1   | B2   | B3    |
| A1         | 0,27 | -0,25 | 7,92 | 0,67  | 1,88 | 1,14  | 5,42 | 0,29 | -0,49 |
| A2         | 0,19 | 1,43  | 0,69 | -1,07 | 4,63 | -0,03 | 0,85 | 2,26 | -0,4  |

Con los cargas de los modos A, B y C y con la matriz del arreglo central  $\underline{G}$  se ha calculado la contribución de cada punto de muestreo y cada tejido a cada metal estudiado, y se han representado los resultados obtenidos como gráficos de superficie en la **Figura VI.7**. La contribución o relación de cada metal con cada tejido de los peces analizados en cada punto de muestreo queda recogido en esta figura, observándose distintos patrones de concentración de los metales en los peces. De este modo, todos los metales estudiados muestran unos patrones claramente diferenciados entre los ecosistemas, observándose para la mayoría de los metales las contribuciones más altas del modelo en los puntos de la Ría de Huelva, en especial en los puntos H1 y H3. Excepto para As, el cual tiene las mayores contribuciones en los puntos de la Bahía de Cádiz, en especial en el punto C4. Del mismo modo, también se pueden observar distintos patrones de concentración de los metales entre las especies y los tejidos estudiados. Así, As es el único metal que muestra una acumulación diferente entre las especies estudiadas en la Bahía de Cádiz, en donde las mayores contribuciones al modelo se observan en los tres tejidos de lenguado. Los otros metales estudiados muestran una diferenciación por tejidos, de manera que Pb presenta mayores contribuciones en los tejidos de branquias, mientras que para Cd, Cu y Zn las mayores contribuciones al modelo se dan en los tejidos de hígado, aunque con unas contribuciones mayores para hígado de doradas.

Una vez estudiado los patrones de concentración de los metales se ha estudiado las relaciones que puedan existir entre los datos de concentración de los metales con los diferentes tejidos y los sistemas estudiados, para así comprender mejor los procesos de acumulación y las diferencias existentes entre ambos sistemas. Con este objetivo, se ha hecho uso de un tipo de representación en el que las entidades de dos de los modos del modelo se proyectan en relación a una de las componentes del modo restante, permitiendo agrupar las entidades y establecer relaciones con respecto a esta componente. En las **Figura VI.8** y la **Figura VI.9** se muestran la proyección de las entidades de los modos A y C sobre los componentes B y la proyección

de las entidades de los modos A y B sobre los componentes de C, respectivamente.



**FIGURA VI.7.** Representación de superficie de la contribución espacial y por tejido para cada variable.

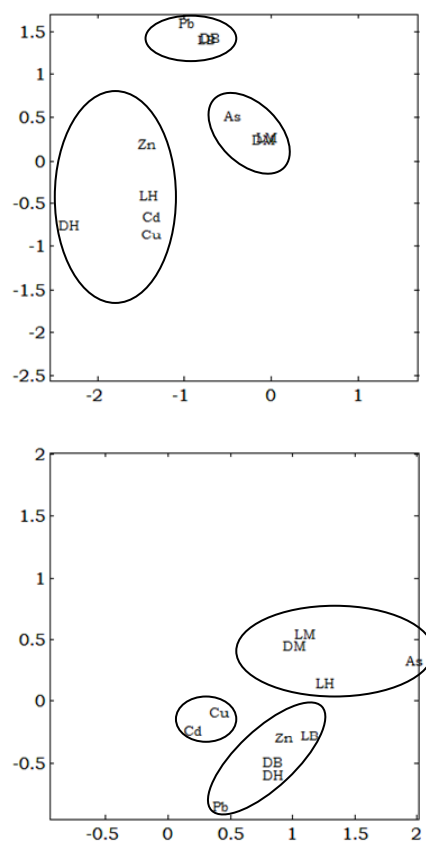
La proyección de las entidades de los modos B y C sobre los componentes del modo A proporciona información sobre las relaciones existentes entre los metales y las especies estudiadas para cada una de las zonas estudiadas. De este modo la proyección sobre el componente A1, que describe los puntos de muestreo de Huelva, muestra una distribución en tres grupos cada uno asociado a cada uno de los tejidos: Pb asociado a branquia, Zn, Cd y Cu próximos a los tejidos de hígado, y As asociado con el músculo. Cuando se realiza la proyección sobre el componente A2, que describe los puntos de Cádiz, no se observa una distribución por tejidos, sino existe una agrupación en tres grupos: el primero formado por los tejidos de músculo en doradas y lenguados e hígado en lenguados con As, el segundo grupo está formado por Zn y Pb agrupados junto a los tejidos de hígado de dorada y branquia de ambas especies, y un tercer grupo formado por los metales Cd y Cu. De estas proyecciones se puede concluir que las diferencias entre los tejidos estudiados se hacen más evidentes en los sistemas que presentan una alta contaminación, además se observa que no existe una diferenciación entre



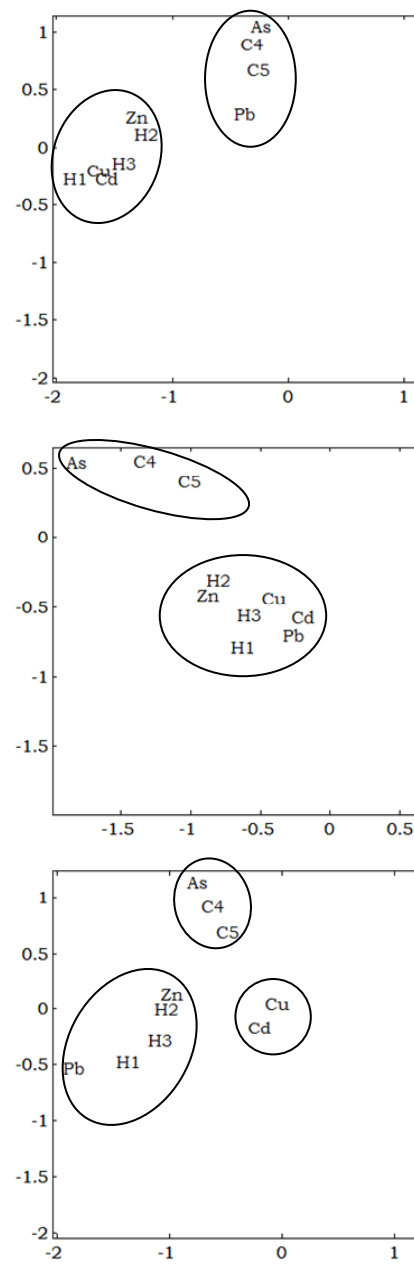
especies para la concentración de los metales en branquias y músculo en ninguno de los sistemas, de hecho los tejidos de músculo de ambas especies aparecen siempre muy próximos entre si. Sin embargo, en el caso de los tejidos de hígado, existen más diferencias entre las especies que las observadas para los otros tejidos, llegando a diferenciarse una especie de otra en los peces capturados en la Bahía de Cádiz. Además, en estas gráficas se reflejan cuales son los tejidos más importantes donde se acumulan los metales, así, la acumulación de Pb en branquias es más importante que en cualquier otro tejido, indicando que probablemente la vía principal de entrada de Pb a los peces sea la absorción directa a través de los órganos osmoregulatorio. La acumulación más importante de As ocurre en los tejidos de músculo y en Cádiz también en los tejidos de hígado de lenguado, lo cual puede indicar que este metal es bioacumulado por los peces. Por último para Zn, Cd y Cu la acumulación más importante ocurre en el hígado, no siendo importante su acumulación en músculo, lo cual parece indicar que estos metales son sometidos a procesos de destoxificación en el hígado y son posteriormente eliminados. Hay que indicar en el caso del Zn es importante su acumulación en las branquias en los peces de Cádiz, lo cual podría indicar al igual que en el caso del Pb una importante vía de entrada de este metal en los peces. Para finalizar, hay que indicar que el comportamiento similar de Cd y Cu que no aparecen asociados a ningún tejido en Cádiz, indica que en este sistema la acumulación de estos metales en los peces no es muy importante y por tanto no se obtienen asociaciones concluyentes.

En la Figura VI.9, la proyección de las entidades de los modos A y B sobre el componente C1, relacionado con los tejidos de hígado, muestra una distribución de las entidades puntos de muestreo y metales en dos grupos, en uno de ellos se agrupa el contenido de As y Pb para los puntos de muestreo de la Bahía mientras que en el otro grupo aparecen asociados los puntos de muestreo de la Ría con los metales Cu, Cd y Zn, lo que indica la importancia de estos metales en la contaminación para cada sistema. Cuando se realiza la proyección respecto al componente C2, relacionado con el tejido músculo, se observa una distribución similar a la anterior, con la única excepción observada para el Pb que aparece asociado con los puntos de muestreo de la Ría. Por último, la proyección con respecto al componente C3, asociado con las branquias, presenta una distribución de las entidades de los modos A y B en tres grupos, el As está ligado a los puntos de muestreo de Cádiz, Pb y Zn quedan próximos a los puntos de Huelva mientras que Cd y Cu no quedan claramente asociados a ninguna región en concreto. A partir de estas

observaciones se puede concluir que tejidos son importantes en el control de cada uno de los metales estudiados en función del sistema que se estudia. Así, es útil e importante el estudio de la acumulación de As en todos los tejidos de peces de la Bahía de Cádiz, mientras que lo es para el Zn en la Ría de Huelva. En el caso de Pb, en los puntos de Huelva es importante estudiar su acumulación en los tejidos de músculo y branquia mientras que en Cádiz el tejido más importante es hígado. Por último, la acumulación de Cd y Cu es más importante en los tejidos de hígado y músculo en los puntos de Huelva. También se concluye que estos metales no se acumulan en las branquias y por tanto evaluar sus concentraciones en branquias no sería importante para el estudio de ninguno de los sistemas.



**FIGURA VI.8.** Proyección de las entidades de los modos B y C sobre el componente A1 (para las muestras de Huelva) (a) y sobre el componente A2 (para las muestras de Cádiz) (b).



**FIGURA VI.9.** Proyección de las entidades de los modos A y B sobre el componente C1 (hígado) (a), sobre el componente C2 (músculo) (b) y sobre el componente C3 (branquia) (c).



## CONCLUSIONES



En función de los resultados obtenidos en la cuantificación de los niveles totales en agua, sedimento y tejidos de hígado, músculo y branquias en doradas (*Sparus aurata*) y lenguados (*Solea senegalensis*) de los metales As, Cd, Pb, Cu y Zn, así como en el estudio de la especiación de estos metales en agua y sedimento en dos zonas del Golfo de Cádiz que tienen la consideración de “zonas sensibles”, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

➤ Las dos zonas objeto de estudio, la Bahía de Cádiz y la Ría de Huelva, presentan situaciones de contaminación metálica diferente. Los índices de contaminación metálica (MPI) en aguas, sedimentos y peces reflejan unos niveles metálicos en las aguas del orden de 3 a 12 veces superior en Huelva que en Cádiz, del orden de 30 a 45 veces en los sedimentos y de 2 a 4 veces superior en peces.

➤ Esta diferencia entre las dos zonas se refleja al comparar los niveles de As, Cd, Pb, Cu y Zn con los valores de referencia. La Ría de Huelva es un sistema muy contaminado, en el que todos los metales estudiados superan los niveles de fondo y naturales tanto en agua como en sedimento, además Cu y Zn superan con frecuencia los niveles de referencia que evalúan el impacto sobre la vida acuática en agua, y todos los metales, salvo Cd, superan frecuentemente los niveles de referencia con efectos en la biota en sedimento. Los niveles de todos los metales en peces, y en especial As, superan frecuentemente los valores estándares. Sin embargo en la Bahía de Cádiz los niveles de los metales en agua y sedimentos casi nunca alcanzan los niveles de impacto sobre la biota, a excepción de los niveles de As y Cu en los sedimentos. Estas diferencias también se reflejan en los factores de enriquecimiento calculados para los sedimentos, mientras en la Bahía estos factores son próximos a la unidad para casi todos los metales estudiados, los factores hallados en Huelva son extremadamente altos, lo que describe un sistema altamente afectado por la contaminación metálica.

➤ Los índices de contaminación metálica en la Ría de Huelva, muestran un patrón general de distribución geoquímica caracterizado por una disminución del índice de contaminación en las aguas en el punto de muestreo del Canal del Padre Santo (desembocadura) y un aumento del índice en sedimentos para este mismo punto. Estos datos confirman la precipitación metálica que ocurre cuando se mezclan las aguas del Tinto y Odiel con las aguas procedentes de mar abierto y el papel de los sedimentos como sumidero de la contaminación en la ría. Lo cuál justifica, que la diferencia entre los índices de contaminación de Huelva y Cádiz sea mayor en los sedimentos que en las aguas.

➤ En la Ría de Huelva, los metales estudiados se ordenan en función de su concentración total en agua y sedimento como sigue:  $Zn > Cu > Pb > As > Cd$  y  $Cu > Zn > Pb > As > Cd$ , respectivamente.

➤ En función de la distribución de los metales entre las fracciones disueltas y particulada de las aguas de la Ría de Huelva, éstos se ordenan según su disponibilidad como  $As > Cd > Zn > Pb > Cu$ .

➤ En función de su especiación en los sedimentos el orden de disponibilidad de los metales en la Ría de Huelva es el siguiente:  $Cd > Zn > Cu > Pb > As$ .

➤ En la Ría de Huelva, el contenido de As en las aguas no está sometido a influencia estacional ni espacial, aparece principalmente en forma muy disponible en la fracción disuelta como As inorgánico, siendo ésta su forma más tóxica. Sin embargo, en los sedimentos se encuentra principalmente en la fracción residual, que es la fracción menos disponible. Esto podría indicar que la presencia de As disuelto no es debida a la movilización desde los sedimentos sino a aportes externos al sistema.

➤ El contenido de Cd en las aguas de la Ría de Huelva presenta una tendencia estacional, caracterizada por valores más elevados en primavera que en otoño. Esto se puede deber al origen de este metal en la actividad minera en las cuencas de los ríos Tinto y Odiel y al mayor régimen de precipitaciones en primavera que provoca un incremento en el grado de lixiviación. Además, el contenido total de Cd en las aguas está correlacionado con parámetros físico-químicos como la salinidad y COD, que se traducen en una disminución de los niveles de Cd en agua en la desembocadura de la Ría. Este metal aparece distribuido principalmente en la fase disuelta, aunque se observa una tendencia estacional, de modo que el porcentaje de fracción particulada del mismo aumenta en los muestreos de primavera. El reparto de Cd entre la fase disuelta y particulada vuelve a depender de los parámetros físico-químicos anteriores, salinidad y COD, aumentando la fracción disuelta al acercarnos a la desembocadura. Tanto en agua como en sedimentos Cd se encuentra mayoritariamente en las formas más disponibles, como ión libre en las aguas y en la fracción intercambiable en los sedimentos, lo que hace que Cd sea el metal más disponible de la Ría de Huelva junto con el As.

➤ La contaminación de Pb en las aguas de la Ría de Huelva es prácticamente constante en el tiempo y el espacio, dado que no se ha encontrado ni influencia espacial ni estacional en la misma, aunque se ha observado un valor extremo en el punto de muestreo del Río Odiel para el tercer muestreo, que parece indicar un episodio puntual de contaminación a la Ría. Este metal tiene una gran afinidad para ser transportado en los sólidos



en suspensión, lo cual se deduce porque aparece mayoritariamente en la fracción particulada de las aguas y por los elevados coeficientes de reparto  $K_d$  que se han encontrado para él. A partir de la especiación de Pb en las aguas y los sedimentos, se puede describir la geoquímica de este metal en la Ría de Huelva como sigue: Pb es transportado en las aguas por los sólidos en suspensión o bien disuelto en forma no lábil, por medio de procesos de floculación pasa a los sedimentos mayoritariamente a las fracciones oxidable y residual, lo cual queda demostrado por las correlaciones lineales que se han hallado entre las fracciones poco lábil inorgánica y orgánica con la fracción oxidable de Pb en los sedimentos. Por tanto los sedimentos de la Ría actúan como sumidero de la contaminación de Pb, que se encuentra poco disponible para la biota y que a menos que se den unas condiciones extremas no se removilizarán a la columna de agua.

➤ Cu es junto con Zn, el metal más abundante en la Ría de Huelva. Este metal, al igual que Cd, tiene su origen en la actividad minera en las cuencas de los ríos Tinto y Odiel, y también como Cd, presenta tendencia estacional caracterizada por unos valores más altos en primavera, así como correlación con la salinidad provocando una disminución en los niveles de Cu en la desembocadura. Cu tiene una gran afinidad para ser transportado en la fase sólida de las aguas, en la fase disuelta aparece como ión libre en la fracción lábil, pero mayoritariamente en las fracciones poco lábiles inorgánica y orgánica, debido a su capacidad para formar complejos. La geoquímica de Cu en la ría es similar a la de Pb, los procesos de precipitación que ocurren en el estuario arrastran el Cu particulado y poco lábil a los sedimentos incorporándose principalmente en la fracción oxidable, posiblemente debido a su facilidad para formar complejos orgánicos.

➤ Zn es de los metales más abundante en la Ría de Huelva. Su contenido en las aguas es mayor en los puntos de muestreo de Odiel y Tinto que en el Canal de Padre Santo, y presenta correlación con COD en las aguas. Al igual que Cd aparece principalmente en la fracción disuelta de las aguas, aunque como ocurría con Cd, presenta tendencia estacional de manera que aumenta su porcentaje en la fracción particulada en los muestreos de primavera. En la fracción disuelta aparece en forma inorgánica lábil o poco lábil, así como en la fracción no lábil. De forma minoritaria aparece en las fracciones orgánicas lábil y poco lábil, estando esta última correlacionada con parámetros físico-químicos como el oxígeno disuelto en las aguas y el porcentaje de materia orgánica en los sólidos en suspensión y en los sedimentos. En los sedimentos, el Zn aparece enlazado principalmente a la fracción más lábil, debido probablemente a la incorporación en esta fase del Zn que precipita incluido en

los componentes pobremente cristalizados de los sedimentos, aunque se ha hallado una relación entre las fracciones poco disponibles de Zn en agua con su fracción reducible en los sedimentos. Esto hace que el Zn que se incorpora a los sedimentos desde la columna de agua, presente todavía una gran movilidad y sea disponible. Por lo tanto, en las aguas y sedimentos el Zn está en forma disponible para la biota.

➤ Las similitudes observadas entre las concentraciones totales y disuelta en agua, y en menor medida entre los niveles totales en los sedimentos, al realizar los análisis de conglomerados o cluster, permite agrupar a Zn, Cd y Cu en función de un origen geoquímico común debido a su asociación natural a la composición de los depósitos de sulfuros del Cinturón Pirítico Ibérico (CPI). Otra agrupación destacada, es la que se establece entre los niveles totales en agua y sedimento de Pb y As, que podría ser indicador de un posible origen común, distinto al de Zn, Cd y Cu, y presumiblemente de origen industrial.

➤ Los peces de la Ría de Huelva presentan una elevada contaminación por metales pesados, lo cual se refleja al compararlos con otros resultados publicados en la bibliografía y por el hecho que los niveles de todos los metales superan con frecuencia los valores niveles estándares hallados en la bibliografía, en especial sus niveles en los tejido de hígado.

➤ Con respecto a las especies estudiadas, solo se han hallado diferencias entre ellas en Huelva para los niveles de Cd y Zn. Estos metales presentan una mayor acumulación en doradas que en lenguados. Los niveles de As en los peces de Huelva son los únicos que presentan una influencia estacional, siendo mayores en los muestreos realizados en primavera. Para todos los metales se ha encontrado diferencias de acumulación entre los tejidos estudiados, de modo que se pueden establecer los siguientes ordenes de acumulación: para Zn, Cd y Cu hígado > branquia > músculo, para As hígado > branquia > músculo, y para Pb branquia > hígado > músculo. Existe una relación importante entre los niveles de todos los metales tanto para doradas como lenguados, excepto con el As. Así mismo se ha observado que el mayor número de correlaciones entre los metales se dan en los tejidos de hígado y branquia en el caso de las doradas, y entre los tejidos de músculo para los lenguados.

➤ En la Bahía de Cádiz, los metales estudiados se ordenan en función de su concentración total en agua y sedimento como sigue: Zn > Cu > Pb > As > Cd.

- En función de la distribución de los metales entre las fracciones disueltas y particulada de las aguas de la Bahía de Cádiz, éstos se ordenan según su disponibilidad como  $As > Zn > Pb > Cu > Cd$ .
- En función de su especiación en los sedimentos el orden de disponibilidad de los metales en la Ría de Huelva es el siguiente:  $Cd > Pb > Zn > As > Cu$ .
- De forma general, se puede decir que los niveles metálicos en la Bahía de Cádiz son muy inferiores a los observados en la Ría de Huelva. Además, en la Bahía los metales se encuentran tanto en aguas como en los sedimentos en forma menos disponible para la biota.
- En las aguas de la Bahía de Cádiz, se han observado unos niveles muy bajos de As, siempre dentro del rango de los valores de fondo o naturales. Su distribución es constante en el tiempo, aparece mayoritariamente en la fracción disuelta en su forma inorgánica. Sin embargo, en los sedimentos los niveles de As superan los niveles guía de calidad, así como, los niveles de concentración con efectos biológicos bajos. Aunque el As en los sedimentos se encuentra principalmente en forma poco lábil en la fracción residual y fracción reducible.
- El Cd aparece en las aguas de la Bahía de Cádiz a unos niveles bajos y asociado principalmente a la fracción particulada, sin embargo los coeficientes de reparto entre la fase particulada y disuelta ( $K_d$ ) son del mismo orden que los obtenidos en Huelva, lo que indica que el aumento de la fracción particulada de Cd está asociado a un aumento en la densidad de los sólidos en suspensión en las aguas y no a un comportamiento distinto de Cd en Cádiz y en Huelva. Su especiación en las aguas ha sido variable a lo largo de este estudio, apareciendo frecuentemente asociado a fracciones poco disponibles, como la fracción no lábil, lábil orgánica y poco lábil inorgánica, aunque esta última solo se observa en otoño. Sin embargo, Cd es el metal más disponible de los sedimentos estando asociado mayoritariamente a la fracción intercambiable, fracción oxidable y reducible, en este orden.
- En la Bahía de Cádiz, la distribución de Pb entre la fracción disuelta y particulada no es tan clara como en Huelva. Durante el primer y último muestreo aparece en mayor proporción en la fase disuelta, sin embargo en los muestreos segundo y tercero casi todo el metal se encuentra en la fracción particulada, habiéndose encontrado correlación entre esta distribución de Pb y el pH de las aguas. En la fracción disuelta, el Pb se encuentra de forma mayoritaria en la fracción inerte, siendo el metal que presenta una menor disponibilidad. En los sedimentos el Pb aparece mayoritariamente en la fracción residual, y en menor medida en la fracción oxidable y reducible.

➤ El Cu se encuentra en las aguas de la bahía asociado mayoritariamente a la fracción particulada, siendo el metal que tiene unos coeficientes de reparto Kd más altos, después de Pb. Las concentraciones de Cu en las aguas presentan diferencias estadísticas entre los puntos de muestreo, con los valores más altos en el estero de los desamparados. También se observa que el pH de las aguas correlaciona tanto con los niveles totales de Cu, como en su distribución entre las fracciones disuelta y particulada. El Cu disuelto aparece principalmente en su forma no lábil, aunque en el punto de muestreo del Puente Zuazo se encuentra también en forma orgánica, lábil y poco lábil. Al igual que As, los niveles de Cu en los sedimentos superan los niveles de calidad, así como, los niveles de concentración con efectos biológicos bajos. Aunque la disponibilidad de Cu en los sedimentos es muy baja, ya que aparece principalmente en las fracciones menos disponibles, la fracción residual y oxidable.

➤ El Zn es el metal más abundante de la Bahía de Cádiz, tanto en agua como en sedimentos, siendo mayores los niveles de Zn en los sedimentos en el punto de muestreo del Puente Zuazo. En las aguas, se encuentra asociado mayoritariamente a la fracción disuelta, siendo por tanto un metal muy disponible en el sistema, sin embargo, su especiación en la fracción disuelta de las aguas indica que en la Bahía de Cádiz se encuentra en sus formas químicas menos disponibles, siendo la fracción inerte la mayoritaria durante el primer y último muestreo, la fracción poco lábil inorgánica en el segundo muestreo y la fracción poco lábil orgánica en el tercer muestreo. En los sedimentos el Zn se encuentra en formas poco disponible, mayoritariamente en la fracción residual y en menor medida en las fracciones oxidable y reducible.

➤ Los niveles observados para los metales en la Bahía de Cádiz, sugiere un origen natural de los mismos, excepto en el caso de Cu y As en los sedimentos, y el grado de similitud hallado entre los metales en las aguas y sedimentos agrupa los metales con un posible origen geoquímico común como sigue: Zn y Cd, Cu y Pb, y por último con un origen geoquímico independiente As.

➤ La concentración metálica hallada en los peces capturados en la Bahía de Cádiz es inferior a la observada en los peces capturados en Huelva, para todos los metales estudiados salvo As cuyos niveles en los peces de Cádiz son superiores. Los niveles de Cu y Zn en peces son superiores a los de los otros estudios con los que se han comparado, y en varias ocasiones superan los valores estándares, sobre todo en hígado de doradas y lenguados. Sin embargo As es el metal que supone un mayor riesgo, ya que en gran número

de ocasiones supera los valores estándares para peces capturados en ambos puntos de muestreo. Por otro lado los niveles de Cd y Pb suelen estar dentro de los límites legales.

➤ En la Bahía de Cádiz, se han hallado diferencias entre doradas y lenguados en los niveles de Cu y Zn, los cuales son mayores en doradas que en lenguados. Los niveles de As, Pb y Cd presentan una influencia estacional, siendo mayores en los muestreos realizados en primavera. Para todos los metales se ha encontrado diferencias de acumulación entre los tejidos estudiados, coincidiendo los órdenes de acumulación entre tejidos con los comentados para los peces de Huelva. Existe una relación importante entre los niveles de todos los metales tanto para doradas como lenguados, incluido el As, aunque para él las correlaciones halladas han sido negativa. Así mismo se ha observado un gran número de correlaciones entre los metales en todos los tejidos y para las dos especies estudiadas.

➤ La contaminación metálica de los peces es consecuencia directa de la contaminación del sistema, como lo demuestra la gran correlación encontrada entre los índices de contaminación metálica (ICM) en agua y sedimento con el índice calculado para los tejidos de hígado de las doradas y lenguados, siendo este el tejido en el que en mayor medida se acumulan la mayoría de los metales estudiados. También se han hallado correlaciones entre el contenido de los metales en peces y en el medio, así han encontrado correlación entre los niveles de Zn, Cd y Cu en las aguas y sedimentos con su acumulación en los tejidos de los lenguados, así como entre los niveles de As en agua y sedimento y los niveles de Cd y Pb en sedimento con su acumulación en las doradas.

➤ La contaminación metálica de los peces es función de la forma química y de la disponibilidad de los metales, siendo este un factor muy importante pero no el único, influyendo entre otros los factores bióticos. Así, los factores de discriminación y de bioconcentración en agua y sedimento indican que los metales que se acumulan en mayor medida en los peces desde las aguas son As, Zn y Cu, y el que menos Cd que es el que aparece en sus formas químicas más disponibles. En el caso de la bioconcentración de los metales desde los sedimentos, ésta depende del tejido estudiado, observándose en hígado de peces Huelva como el orden de acumulación de los metales coincide con su orden de disponibilidad en los sedimentos.

➤ En este trabajo se ha identificado los patrones de concentración de los metales en los peces. La concentración para todos los metales en los peces, excepto As, es más importante en los puntos de la Ría de Huelva. Las diferencias entre los tejidos estudiados se hacen más evidentes en los

sistemas que presentan una alta contaminación, no existe una diferenciación entre especies para la concentración de los metales en branquias y músculo en ninguno de los sistemas. Para hígado, existen diferencias entre las especies para peces capturados en la Bahía de Cádiz. La acumulación de Pb en branquias es más importante que en cualquier otro tejido, indicando que probablemente la vía principal de entrada de Pb a los peces sea la absorción directa a través de los órganos osmoregulatorio. La acumulación más importante de As ocurre en los tejidos de músculo y en Cádiz también en los tejidos de hígado de lenguado, lo cual puede indicar que este metal es bioacumulado por los peces. Por último para Zn, Cd y Cu la acumulación más importante ocurre en el hígado, no siendo importante su acumulación en músculo, lo cual parece indicar que estos metales son sometidos a procesos de destoxificación en el hígado y son posteriormente eliminados.

ANEXOS





## **A.1. VALIDACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DEL PRESENTE ESTUDIO**

---

### **A.1.1. VALIDACIÓN DEL EQUIPO DE ANÁLISIS METROHM PARA MEDIDAS DE LAS MUESTRAS DE AGUA POR DPASV**

---

La validación del equipo se llevó a cabo mediante la prueba estadística de exactitud de NIST sobre la muestra de referencia de la Community Bureau of Reference (BCR) CRM505 (estuarine water, acidificada a pH 1,6) entre cuyos metales certificados se encuentran Zn, Cd y Cu, y entre los valores indicativos se encuentra Pb.

Para realizar el análisis de la muestra de referencia CRM505 la misma debe ser digerida y ajustado su pH a aproximadamente 2-2,4. Para ajustar el pH de la muestra se empleó  $\text{NH}_3$  (Merck, calidad suprapur) que minimiza la adición de impurezas.

Dos alícuotas de la muestra de referencia CRM505 fueron analizadas por DPASV utilizando el siguiente protocolo:

- Se toman en dos tubos de cuarzo unos 15 mL de muestra de referencia CRM505.
- Se adiciona a cada alícuota de muestra 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Merck, calidad suprapur).
- Se digiere mediante irradiación con lámpara de mercurio de 550 W durante 2 horas, poniendo cuidado en que la muestra no supere la temperatura de 78 °C para que no hierva y se pierda cantidad de muestra.
- Se deja enfriar a temperatura ambiente.
- Se traspasa toda la muestra a un recipiente de poliestireno de 30 mL limpio según el protocolo de limpieza del laboratorio.
- Mediante pesada se adiciona en la celda voltamperométrica 10 mL de muestra (se toma como densidad de la muestra 1 g/cm<sup>3</sup>).
- Se adiciona 0,08 mL de una disolución de  $\text{NH}_3$  diluida 1:3 recién preparada.
- Se mide por DPASV.

La manipulación de las muestras se realiza dentro de una campana de flujo laminar con atmósfera limpia.

Como medida de seguridad siempre se mide un blanco, agua con nítrico (50 µL en 10 mL de agua Milli-Q), para comprobar la limpieza de los electrodos y del sistema en general.

Las condiciones electroquímicas de medida fueron:

$U_{\text{ampl}} = 50 \text{ mV}$ ;  $t_{\text{step}} = 0,80 \text{ s}$ ;  $U_{\text{meas}} = -1150 \text{ mV}$ ;  $t_{\text{meas}} = 32,0 \text{ ms}$ ;  $t_{\text{pulse}} = 100 \text{ ms}$ ;  
 $U_{\text{step}} = 12 \text{ mV}$ ; Sweep rate = 15 mV/s

**TABLA A.1.** Resultados obtenidos en el análisis de la muestra de referencia CRM505 (µg/L) (número de réplicas 2).

| METAL | Valor<br>certificado | Valor<br>observado |
|-------|----------------------|--------------------|
| Pb    | 0,05 ± 0,03          | 0,09 ± 0,01        |
| Cd    | 0,09 ± 0,005         | 0,08 ± 0,01        |
| Cu    | 1,87 ± 0,095         | 2,00 ± 0,13        |
| Zn    | 11,24 ± 0,719        | 9,29 ± 1,55        |

Estos resultados son aceptables para todos los metales certificados en la muestra de referencia y también para el Pb, cuyo valor es indicativo y del mismo orden que el límite de detección de la técnica.

#### **A.1.2. VALIDACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE SEDIMENTO**

---

Para realizar la validación del análisis del contenido metálico total en las muestras de sedimentos se analizó la muestra de referencia de la *National Institute of Standard & Technology* Estándar Referente Material 1649a

(estuarine sediment), entre cuyos metales certificados se encuentran As, Pb, Cd, Cu, Zn y Fe. El análisis de los metales objeto de estudio se llevó a cabo sobre la muestra de referencia que previamente había sido secada a 110°C durante dos horas, y sometida posteriormente a la digestión ácida descrita en esta memoria.

**TABLA A.12.** Resultados certificado y observados en la muestra de referencia 1649a (mg/Kg) (número de réplicas 2).

| METAL | Valor certificado | Valor observado |
|-------|-------------------|-----------------|
| As    | 6,23 ± 0,21       | 7,31 ± 1,95     |
| Pb    | 11,7 ± 1,2        | 11 ± 2,2        |
| Cd    | 0,148 ± 0,007     | 0,150 ± 0,001   |
| Cu    | 10,01 ± 0,34      | 9,64 ± 0,15     |
| Zn    | 48,9 ± 1,6        | 32,2 ± 0,9      |
| Fe    | 2,008 ± 0,039%    | 1,881 ± 0,197%  |

Se han obtenido unos resultados aceptables para todos los metales certificados.

### **A.1.3. VALIDACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS**

Para realizar la validación del análisis de los niveles metálicos en las muestras biológicas se analizaron las siguientes muestras de referencia de la *Nacional Research Council Canada / Conseil national de recherches Canada*: DOLT-3 (dogfish liver Certificated Referente Material for Trace Metal) y DORM-2 (dogfish muscle certificated referente material for trace metals and elemental species). La primera de éstas se ha empleado para validar el método de digestión de microondas propuesto en este trabajo para los tejidos de hígado, mientras que la segunda se ha empleado para validar el método de digestión ácida por microondas propuesto en este trabajo para los tejidos de branquia y músculo.

Se ha estudiado la eficiencia de la digestión ácida de las muestras mediante el empleo de calor, aplicando el proceso que se indica a continuación:

- Se pesan porciones comprendidas entre los 0,1 y 0,5 g de peso seco de cada tejido en recipientes de teflón de 100 mL de capacidad.
- Se añaden 10 mL de ácido nítrico (Merck, calidad suprapur) y se calientan en la estufa a 80 °C durante 24 horas.
- Se dejan enfriar los recipientes a temperatura ambiente.
- Los recipientes se abren y se someten a un calentamiento suave en placa calefactora en el interior de una campana de flujo laminar hasta que se reduce el volumen de la disolución ácida hasta 1 o 2 mL.
- Se añaden otros 10 mL de ácido nítrico (Merck, calidad suprapur) y se calientan en la estufa a 80 °C durante 24 horas.
- Se dejan enfriar los recipientes a temperatura ambiente.
- Los recipientes se abren y se someten a un calentamiento suave en placa calefactora en el interior de una campana de flujo laminar hasta que se reduce el volumen de la disolución ácida hasta 1 o 2 mL.
- Las muestras digeridas se recogen y enrasan hasta 25 mL con agua Milli-Q.
- Se analizan por espectroscopia de absorción atómica con llama (AAS).

**TABLA A.3.** Resultados certificados y observados para la muestra de referencia DOLT-3 (mg/Kg).

| METAL | DOLT-3            |                 |
|-------|-------------------|-----------------|
|       | Valor certificado | Valor observado |
| Cd    | 19,4 ± 0,6        | 10,67 ± 0,462   |
| Cu    | 31,2 ± 1,00       | 11,498 ± 0,690  |

**TABLA A.4.** Resultados certificados y observados para la muestra de referencia DORM-2 (mg/Kg).

| METAL | DORM-2            |                 |
|-------|-------------------|-----------------|
|       | Valor certificado | Valor observado |
| Cd    | 0,043 ± 0,01      | 0,094 ± 0,013   |
| Cu    | 2,34 ± 0,16       | 4,45 ± 2,347    |

A la vista de los resultados obtenidos tanto para el Cu como para el Cd con la digestión ácida con bombas de teflón, que se muestran en las **Tabla A.3** y **A.4**, comparándolos con los valores certificados para las muestras de referencia se concluye que: la digestión ácida con calor no permite alcanzar una digestión completa de las muestras. Por ello se decidió sustituir este tipo de digestión por la digestión ácida asistida por microondas. La digestión por

microondas tiene frente a la digestión ácida las siguientes ventajas: Es una digestión más efectiva, que no posee una fase de evaporación en la cual se puede contaminar o perder la muestra y además es una digestión más rápida, siendo ésta una ventaja muy importante teniendo en cuenta el elevado número de muestras en este estudio.

En las Tablas **A.5** y **A.6** se recogen los resultados obtenidos en el análisis de las muestras de referencia biológicas empleando la digestión ácida asistida por microondas descrita en este trabajo.

**TABLA A.5.** Resultados certificados y observados para la muestra de referencia DOLT-3 (mg/Kg) (número de réplicas 11).

| METAL | DOLT-3            |                 |
|-------|-------------------|-----------------|
|       | Valor certificado | Valor observado |
| As    | 10,2 ± 0,5        | 9,79 ± 0,57     |
| Pb    | 0,319 ± 0,05      | 0,30 ± 0,03     |
| Cd    | 19,4 ± 0,6        | 18,66 ± 1,04    |
| Cu    | 31,2 ± 1,00       | 24,18 ± 3,79    |
| Zn    | 86,6 ± 2,4        | 80,28 ± 6,26    |

**TABLA A.6.** Resultados certificados y observados para la muestra de referencia DORM-2 (mg/kg) (número de réplicas 7).

| METAL | DORM-2            |                 |
|-------|-------------------|-----------------|
|       | Valor certificado | Valor observado |
| As    | 18 ± 1,10         | 19,50 ± 2,05    |
| Pb    | 0,065 ± 0,01      | 0,047 ± 0,023   |
| Cd    | 0,043 ± 0,01      | 0,041 ± 0,01    |
| Cu    | 2,34 ± 0,16       | 2,00 ± 0,42     |
| Zn    | 25,6 ± 2,3        | 24,66 ± 1,085   |

Se han obtenido unos resultados aceptables para todos los metales certificados en las dos muestras de referencia.

## **A.2. ANÁLISIS DE BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN PARA EL ANÁLISIS DE METALES EN ECOSISTEMAS ACUÁTICOS**

Con el fin de evaluar la contaminación producida por los tratamientos de análisis de los metales en los ecosistemas acuáticos, se procedió a la evaluación de los blancos correspondientes a cada uno de los protocolos realizados en el análisis de muestras de aguas, sedimentos y peces.

### **A.2.1. BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN EN EL ANÁLISIS DE METALES EN AGUA**

#### **A.2.1.1. ESPECIACIÓN Zn, Cd, Pb y Cu**

Las medidas de Zn, Cd, Pb y Cu en agua se han realizado por voltamperometría de redisolución anódica de pulso diferencial (DPASV). Para evaluar los blancos correspondientes a cada fase del esquema de especiación (ver **Figura II.15**) se aplicó el mismo tratamiento pero partiendo de agua desionizada (Milli-Q).

**TABLA A.7.** Blancos para cada fase de la especiación de Zn, Cd, Pb y Cu en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| FRACCIÓN                    | Zn                | Cd                | Pb                | Cu                |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| D <sub>F</sub>              | 0,939 $\pm$ 0,082 | 0,021 $\pm$ 0,005 | 0,201 $\pm$ 0,010 | 0,222 $\pm$ 0,007 |
| D <sub>A</sub> <sup>a</sup> | 0,170 $\pm$ 0,115 | 0,003 $\pm$ 0,009 | 0,017 $\pm$ 0,020 | 0,015 $\pm$ 0,016 |
| D <sub>B</sub> <sup>b</sup> | 0,297 $\pm$ 0,164 | 0,009 $\pm$ 0,011 | 0,024 $\pm$ 0,016 | 0,039 $\pm$ 0,073 |
| D <sub>C</sub>              | 2,447 $\pm$ 0,235 | 0,032 $\pm$ 0,006 | 0,425 $\pm$ 0,035 | 0,637 $\pm$ 0,067 |
| D <sub>D</sub>              | 2,653 $\pm$ 0,165 | 0,042 $\pm$ 0,006 | 0,467 $\pm$ 0,042 | 0,659 $\pm$ 0,074 |
| D <sub>E</sub>              | 1,109 $\pm$ 0,081 | 0,024 $\pm$ 0,008 | 0,218 $\pm$ 0,017 | 0,237 $\pm$ 0,014 |

a- Calculado como diferencia entre D<sub>E</sub> y D<sub>F</sub>

b- Para alcanzar las condiciones mínimas de conductividad eléctrica, se obtiene este valor por diferencia entre la medida de una muestra con un contenido iónico proporcionado por la adición de la reguladora de CH<sub>3</sub>COOH / CH<sub>3</sub>COONa y esa misma muestra tratada con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y digestión UV.

También se procedió a evaluar el límite de detección de la técnica analítica DPASV.

En general, se determinó el límite de detección del método mediante la siguiente expresión:

$$\text{Límite de detección} = \frac{3 \cdot s_a}{b}$$

donde  $b$  es la pendiente de la recta de calibración y  $S_a$  es la desviación estándar de la señal analítica de tres réplicas de la ordenada en el origen.

**TABLA A.8.** Límites de detección de Zn, Cd, Pb y Cu para las medidas de DPASV ( $\mu\text{g/L}$ ).

| METAL                                     | Zn    | Cd    | Pb    | Cu    |
|---|-------|-------|-------|-------|
| Límite detección ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | 0,660 | 0,013 | 0,042 | 0,247 |

#### A.2.1.2. ESPECIACIÓN As

Los análisis de As se han realizado empleando la técnica de análisis de espectroscopía de absorción atómica con generación de hidruros (HGAAS). Se han evaluados los blancos de la especiación de As aplicando el mismo tratamiento descrito para las muestras a agua desionizada (Milli-Q).

**TABLA A.9.** Blancos de la especiación de As para medidas de HGAAS ( $\mu\text{g/L}$ ).

| ESPECIE       | As   |
|---------------|------|
| As inorgánico | n.d. |
| As total      | n.d. |

El límite de detección del análisis de As por HGAAS se ha calculado mediante la expresión descrita anteriormente siendo  $S_a$  la desviación estándar de la señal analítica de cinco blancos de preparación.

**TABLA A.10.** Límites de detección de la especiación de As para medidas de HGAAS ( $\mu\text{g/L}$ ).

| ESPECIE       | As    |
|---------------|-------|
| As inorgánico | 0,128 |
| As total      | 0,128 |

### A.2.2. BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN EN EL ANÁLISIS DE METALES EN SEDIMENTOS

Las medidas de Zn, Cd, Pb, Cu y As en sedimentos se han realizado por espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito y/o espectroscopía de emisión acoplada inductivamente a plasma (ICP-AES). Para evaluar los blancos correspondientes a cada fase de la extracción secuencial se han preparado blancos de preparación aplicando la misma metodología pero en ausencia de muestra.

**TABLA A.11.** Blancos para cada fase de la especiación de As, Pb, Cd, Cu y Zn en sedimentos ( $\mu\text{g/L}$ ).

| FASE            | TÉCNICA   | As              | Pb              | Cd              | Cu              | Zn              |
|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Intercambiable  | ICP-AES   | $0,92 \pm 0,10$ | $0,66 \pm 0,35$ | $0,23 \pm 0,25$ | $13,5 \pm 19,2$ | $51,4 \pm 34,7$ |
|                 | AAS-horno | n.d.            | 2,85            | 0,15            |                 |                 |
| Reducible       | ICP-AES   | $9,11 \pm 3,1$  | $17,3 \pm 9,7$  | n.d.            | $38,5 \pm 15$   | n.d.            |
|                 | AAS-horno | 0,086           |                 | 0,03            |                 |                 |
| Oxidable        | ICP-AES   | $13,3 \pm 10$   | $31 \pm 2$      | $0,44 \pm 0,1$  | $163 \pm 99$    | $78,7 \pm 19$   |
|                 | AAS-horno |                 |                 | 0,086           |                 |                 |
| Digestión Ácida | ICP-AES   | $26 \pm 12$     | $202 \pm 26$    | $0,12 \pm 0,01$ | $44 \pm 34$     | $144 \pm 94$    |
|                 | AAS-horno | n.d.            | n.d.            | n.d.            |                 |                 |

El límite de detección de ambas técnicas se ha calculado tal y como se ha descrito anteriormente siendo  $S_a$  la desviación estándar de la señal analítica de diez réplicas de una muestra de blanco de preparación.



**TABLA A.12.** Límite de detección para cada fase de la especiación de As, Pb, Cd, Cu y Zn en sedimentos ( $\mu\text{g/L}$ ).

| FASE            | TÉCNICA   | As   | Pb   | Cd     | Cu  | Zn  |
|-----------------|-----------|------|------|--------|-----|-----|
| Intercambiable  | ICP-AES   | 67,8 | 37,4 | 1,24   | 2,4 | 8,7 |
|                 | AAS-horno | 0,14 | 0,6  | 0,022  |     |     |
| Reducible       | ICP-AES   | 59,7 | 8,1  | 0,318  | 3,9 | 5,1 |
|                 | AAS-horno | 0,48 |      | 0,054  |     |     |
| Oxidable        | ICP-AES   | 60,9 | 29,1 | 0,226  | 45  | 39  |
|                 | AAS-horno |      |      | 0,0051 |     | 0   |
| Digestión Ácida | ICP-AES   | 156  | 98   | 1,4    | 120 | 43  |
|                 | AAS-horno | 1,9  | 0,47 | 0,11   |     |     |

### A.2.3. BLANCOS Y LÍMITES DE DETECCIÓN EN EL ANÁLISIS DE METALES EN PECES

Las medidas de los metales en los tejidos de peces se han realizado mediante Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma Acoplado inductivamente (ICP-AES) y/o por Espectroscopía de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS). Los blancos de preparación se han realizado con la metodología de digestión desarrollada pero en ausencia de muestra.

**TABLA A.13.** Blancos para el análisis de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces ( $\mu\text{g/L}$ ).

| TEJIDOS             | TÉCNICA | Zn                | Cd   | Pb              | Cu              | As              |
|---------------------|---------|-------------------|------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Hígado              | ICP-AES | 0,64 $\pm$ 0,73   |      |                 | 0,49 $\pm$ 0,32 |                 |
|                     | ICP-MS  |                   | n.d. | 0,02 $\pm$ 0,04 |                 | 0,05 $\pm$ 0,03 |
| Músculo y Branquias | ICP-AES | 12,18 $\pm$ 14,72 |      |                 | n.d.            |                 |
|                     | ICP-MS  |                   | n.d. | 0,18 $\pm$ 0,18 |                 | n.d.            |

Se ha calculado el límite de detección a partir de la expresión anteriormente citada para  $S_a$  igual a la desviación estándar de la señal analítica de diez réplicas de una muestra de blanco de preparación.

**TABLA A.14.** Límite de detección para el análisis de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces ( $\mu\text{g/L}$ ).

| TEJIDOS             | TÉCNICA | As    | Pb    | Cd    | Cu   | Zn   |
|---------------------|---------|-------|-------|-------|------|------|
| Hígado              | ICP-AES | 0,265 | 0,014 | 0,009 | 5,21 | 3,71 |
|                     | ICP-MS  |       |       |       |      |      |
| Músculo y Branquias | ICP-AES | 0,325 | 0,027 | 0,015 | 7,96 | 2,36 |
|                     | ICP-MS  |       |       |       |      |      |

### A.3. BASE DATOS DE LOS METALES EN CADA UNO DE LOS COMPARTIMENTOS ACUÁTICOS

#### A.3.1. DATOS DE CONCENTRACIÓN DE LA ESPECIACIÓN METÁLICA EN LAS MUESTRAS DE AGUA

**TABLA A.15.** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 1        | Odiel             | As    | Inorgánica            | $3,691 \pm 0,431$        |
| 1        | Odiel             | As    | Orgánica              | $0,680 \pm 0,464$        |
| 1        | Odiel             | As    | Particulada           | $0,328 \pm 0,066$        |
| 1        | Odiel             | As    | Total                 | $4,699 \pm 0,185$        |
| 1        | Odiel             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d                      |
| 1        | Odiel             | Pb    | Lábil orgánica        | n.d                      |
| 1        | Odiel             | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d                      |
| 1        | Odiel             | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d                      |
| 1        | Odiel             | Pb    | No lábil              | $3,193 \pm 0,222$        |
| 1        | Odiel             | Pb    | Particulada           | $0,517 \pm 0,268$        |
| 1        | Odiel             | Pb    | Total                 | $3,710 \pm 0,150$        |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 1        | Odiel             | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,528 \pm 0,016$        |
| 1        | Odiel             | Cd    | Lábil orgánica        | n.d                      |
| 1        | Odiel             | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d                      |
| 1        | Odiel             | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d                      |
| 1        | Odiel             | Cd    | No lábil              | $0,338 \pm 0,073$        |
| 1        | Odiel             | Cd    | Particulada           | $0,434 \pm 0,159$        |
| 1        | Odiel             | Cd    | Total                 | $1,300 \pm 0,142$        |
| 1        | Odiel             | Cu    | Lábil inorgánica      | $3,50 \pm 1,47$          |
| 1        | Odiel             | Cu    | Lábil orgánica        | $0,34 \pm 1,49$          |
| 1        | Odiel             | Cu    | Poco lábil inorgánica | $9,41 \pm 1,56$          |
| 1        | Odiel             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $1,41 \pm 1,87$          |
| 1        | Odiel             | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 1        | Odiel             | Cu    | Particulada           | $19,85 \pm 2,80$         |
| 1        | Odiel             | Cu    | Total                 | $34,51 \pm 2,62$         |
| 1        | Odiel             | Zn    | Lábil inorgánica      | $10,77 \pm 0,47$         |
| 1        | Odiel             | Zn    | Lábil orgánica        | $0,82 \pm 1,19$          |
| 1        | Odiel             | Zn    | Poco lábil inorgánica | $7,51 \pm 1,32$          |
| 1        | Odiel             | Zn    | Poco lábil orgánica   | $6,99 \pm 2,85$          |
| 1        | Odiel             | Zn    | No lábil              | $36,87 \pm 7,86$         |
| 1        | Odiel             | Zn    | Particulada           | $17,68 \pm 8,5$          |
| 1        | Odiel             | Zn    | Total                 | $80,64 \pm 3,90$         |
| 1        | Tinto             | As    | Inorgánica            | $2,626 \pm 0$            |
| 1        | Tinto             | As    | Orgánica              | n.d.                     |
| 1        | Tinto             | As    | Particulada           | $0,426 \pm 0,023$        |
| 1        | Tinto             | As    | Total                 | $2,999 \pm 0,175$        |
| 1        | Tinto             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 1        | Tinto             | Pb    | Lábil orgánica        | $0,032 \pm 0,05$         |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 1        | Tinto             | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Tinto             | Pb    | Poco lábil orgánica   | $0,001 \pm 0,071$        |
| 1        | Tinto             | Pb    | No lábil              | $2,614 \pm 0,514$        |
| 1        | Tinto             | Pb    | Particulada           | $3,013 \pm 0,714$        |
| 1        | Tinto             | Pb    | Total                 | $5,66 \pm 0,497$         |
| 1        | Tinto             | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,819 \pm 0,032$        |
| 1        | Tinto             | Cd    | Lábil orgánica        | $0,004 \pm 0,152$        |
| 1        | Tinto             | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Tinto             | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Tinto             | Cd    | No lábil              | $0,125 \pm 0,353$        |
| 1        | Tinto             | Cd    | Particulada           | $0,328 \pm 0,374$        |
| 1        | Tinto             | Cd    | Total                 | $1,277 \pm 0,194$        |
| 1        | Tinto             | Cu    | Lábil inorgánica      | $3,72 \pm 0,41$          |
| 1        | Tinto             | Cu    | Lábil orgánica        | $0,12 \pm 0,65$          |
| 1        | Tinto             | Cu    | Poco lábil inorgánica | $3,41 \pm 0,67$          |
| 1        | Tinto             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $1,12 \pm 1,87$          |
| 1        | Tinto             | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 1        | Tinto             | Cu    | Particulada           | $28,70 \pm 3,962$        |
| 1        | Tinto             | Cu    | Total                 | $37,07 \pm 3,60$         |
| 1        | Tinto             | Zn    | Lábil inorgánica      | $38,71 \pm 2,76$         |
| 1        | Tinto             | Zn    | Lábil orgánica        | $6,074 \pm 4,17$         |
| 1        | Tinto             | Zn    | Poco lábil inorgánica | $23,28 \pm 11,25$        |
| 1        | Tinto             | Zn    | Poco lábil orgánica   | $47,74 \pm 15,81$        |
| 1        | Tinto             | Zn    | No lábil              | $10,61 \pm 10,72$        |
| 1        | Tinto             | Zn    | Particulada           | $198,40 \pm 41,19$       |
| 1        | Tinto             | Zn    | Total                 | $324,82 \pm 41,17$       |
| 1        | Padre Santo       | As    | Inorgánica            | $2,549 \pm 0,108$        |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 1        | Padre Santo       | As    | Orgánica              | $0,147 \pm 0,158$        |
| 1        | Padre Santo       | As    | Particulada           | $0,104 \pm 0$            |
| 1        | Padre Santo       | As    | Total                 | $2,8 \pm 0,116$          |
| 1        | Padre Santo       | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 1        | Padre Santo       | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 1        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil orgánica   | $1,115 \pm 0,727$        |
| 1        | Padre Santo       | Pb    | No lábil              | $0,586 \pm 0,74$         |
| 1        | Padre Santo       | Pb    | Particulada           | $0,859 \pm 0,4$          |
| 1        | Padre Santo       | Pb    | Total                 | $2,56 \pm 0,375$         |
| 1        | Padre Santo       | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,452 \pm 0,035$        |
| 1        | Padre Santo       | Cd    | Lábil orgánica        | $0,066 \pm 0,055$        |
| 1        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,083 \pm 0,036$        |
| 1        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Padre Santo       | Cd    | No lábil              | $0,031 \pm 0,74$         |
| 1        | Padre Santo       | Cd    | Particulada           | $0,179 \pm 0,259$        |
| 1        | Padre Santo       | Cd    | Total                 | $0,812 \pm 0,219$        |
| 1        | Padre Santo       | Cu    | Lábil inorgánica      | $1,78 \pm 0,33$          |
| 1        | Padre Santo       | Cu    | Lábil orgánica        | $4,56 \pm 0,49$          |
| 1        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil inorgánica | $5,15 \pm 1,20$          |
| 1        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil orgánica   | $1,32 \pm 1,36$          |
| 1        | Padre Santo       | Cu    | No lábil              | $0,34 \pm 0,59$          |
| 1        | Padre Santo       | Cu    | Particulada           | $7,75 \pm 2,72$          |
| 1        | Padre Santo       | Cu    | Total                 | $20,90 \pm 2,70$         |
| 1        | Padre Santo       | Zn    | Lábil inorgánica      | $19,50 \pm 0,20$         |
| 1        | Padre Santo       | Zn    | Lábil orgánica        | $0,74 \pm 0,90$          |
| 1        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil inorgánica | $12,72 \pm 5,21$         |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 1        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil orgánica   | $13,08 \pm 6,82$         |
| 1        | Padre Santo       | Zn    | No lábil              | $56,01 \pm 5,01$         |
| 1        | Padre Santo       | Zn    | Particulada           | $19,46 \pm 11,92$        |
| 1        | Padre Santo       | Zn    | Total                 | $121,5 \pm 11,64$        |
| 1        | Desamparados      | As    | Inorgánica            | $0,61 \pm 0,16$          |
| 1        | Desamparados      | As    | Orgánica              | $0,167 \pm 0,171$        |
| 1        | Desamparados      | As    | Particulada           | $1,193 \pm 0,31$         |
| 1        | Desamparados      | As    | Total                 | $1,969 \pm 0,315$        |
| 1        | Desamparados      | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Pb    | Lábil orgánica        | $0,031 \pm 0,05$         |
| 1        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Pb    | No lábil              | $11,308 \pm 2,493$       |
| 1        | Desamparados      | Pb    | Particulada           | $4,664 \pm 7,375$        |
| 1        | Desamparados      | Pb    | Total                 | $16,002 \pm 6,941$       |
| 1        | Desamparados      | Cd    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Cd    | Lábil orgánica        | $0,006 \pm 0,01$         |
| 1        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,059 \pm 0,025$        |
| 1        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Cd    | No lábil              | $0,036 \pm 0,079$        |
| 1        | Desamparados      | Cd    | Particulada           | $0,213 \pm 0,298$        |
| 1        | Desamparados      | Cd    | Total                 | $0,313 \pm 0,288$        |
| 1        | Desamparados      | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Cu    | No lábil              | $3,40 \pm 0,46$          |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 1        | Desamparados      | Cu    | Particulada           | $11,42 \pm 1,97$         |
| 1        | Desamparados      | Cu    | Total                 | $14,82 \pm 1,917$        |
| 1        | Desamparados      | Zn    | Lábil inorgánica      | $3,46 \pm 0,56$          |
| 1        | Desamparados      | Zn    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Desamparados      | Zn    | No lábil              | $27,95 \pm 2,76$         |
| 1        | Desamparados      | Zn    | Particulada           | $6,99 \pm 4,50$          |
| 1        | Desamparados      | Zn    | Total                 | $38,40 \pm 3,61$         |
| 1        | Puente Zuazo      | As    | Inorgánica            | $0,076 \pm 0,054$        |
| 1        | Puente Zuazo      | As    | Orgánica              | $0,087 \pm 0,054$        |
| 1        | Puente Zuazo      | As    | Particulada           | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | As    | Total                 | $0,143 \pm 0,029$        |
| 1        | Puente Zuazo      | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Pb    | No lábil              | $1,728 \pm 0,214$        |
| 1        | Puente Zuazo      | Pb    | Particulada           | $0,2 \pm 0,343$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Pb    | Total                 | $1,928 \pm 0,268$        |
| 1        | Puente Zuazo      | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,011 \pm 0,001$        |
| 1        | Puente Zuazo      | Cd    | Lábil orgánica        | $0,009 \pm 0,013$        |
| 1        | Puente Zuazo      | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,038 \pm 0,013$        |
| 1        | Puente Zuazo      | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Cd    | Particulada           | $0,051 \pm 0,024$        |
| 1        | Puente Zuazo      | Cd    | Total                 | $0,11 \pm 0,023$         |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 1        | Puente Zuazo      | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Cu    | Lábil orgánica        | $0,07 \pm 0,05$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Cu    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Cu    | No lábil              | $1,85 \pm 0,35$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Cu    | Particulada           | $0,82 \pm 0,55$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Cu    | Total                 | $2,74 \pm 0,43$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Zn    | Lábil inorgánica      | $3,03 \pm 0,11$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Zn    | Lábil orgánica        | $0,30 \pm 1,47$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Zn    | Poco lábil inorgánica | $0,34 \pm 0,88$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 1        | Puente Zuazo      | Zn    | No lábil              | $6,45 \pm 1,29$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Zn    | Particulada           | $2,02 \pm 2,18$          |
| 1        | Puente Zuazo      | Zn    | Total                 | $12,13 \pm 1,89$         |
| 2        | Odiel             | As    | Inorgánica            | $2,74 \pm 0,054$         |
| 2        | Odiel             | As    | Orgánica              | $0,61 \pm 0,054$         |
| 2        | Odiel             | As    | Particulada           | $0,708 \pm 0$            |
| 2        | Odiel             | As    | Total                 | $4,058 \pm 0$            |
| 2        | Odiel             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Pb    | No lábil              | $1,14 \pm 0,221$         |
| 2        | Odiel             | Pb    | Particulada           | $4,989 \pm 0,488$        |
| 2        | Odiel             | Pb    | Total                 | $6,129 \pm 0,435$        |
| 2        | Odiel             | Cd    | Lábil inorgánica      | $1,886 \pm 0,068$        |
| 2        | Odiel             | Cd    | Lábil orgánica        | $0,042 \pm 0,074$        |



**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 2        | Odiel             | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,587 \pm 0,254$        |
| 2        | Odiel             | Cd    | Poco lábil orgánica   | $0,019 \pm 0,325$        |
| 2        | Odiel             | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Cd    | Particulada           | $0,575 \pm 0,405$        |
| 2        | Odiel             | Cd    | Total                 | $3,109 \pm 0,352$        |
| 2        | Odiel             | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Cu    | Poco lábil inorgánica | $8,34 \pm 1,22$          |
| 2        | Odiel             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $9,07 \pm 1,91$          |
| 2        | Odiel             | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Cu    | Particulada           | $39,82 \pm 2,50$         |
| 2        | Odiel             | Cu    | Total                 | $57,23 \pm 2,02$         |
| 2        | Odiel             | Zn    | Lábil inorgánica      | $48,75 \pm 7,95$         |
| 2        | Odiel             | Zn    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Odiel             | Zn    | Poco lábil inorgánica | $66,74 \pm 9,75$         |
| 2        | Odiel             | Zn    | Poco lábil orgánica   | $1,49 \pm 12,75$         |
| 2        | Odiel             | Zn    | No lábil              | $2,89 \pm 9,78$          |
| 2        | Odiel             | Zn    | Particulada           | $71,35 \pm 13,78$        |
| 2        | Odiel             | Zn    | Total                 | $191,23 \pm 9,93$        |
| 2        | Tinto             | As    | Inorgánica            | $2,017 \pm 0,753$        |
| 2        | Tinto             | As    | Orgánica              | $3,294 \pm 0,949$        |
| 2        | Tinto             | As    | Particulada           | $0,722 \pm 0,013$        |
| 2        | Tinto             | As    | Total                 | $6,033 \pm 0,578$        |
| 2        | Tinto             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Tinto             | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Tinto             | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Tinto             | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 2        | Tinto             | Pb    | No lábil              | $1,514 \pm 0,521$        |
| 2        | Tinto             | Pb    | Particulada           | $5,91 \pm 0,98$          |
| 2        | Tinto             | Pb    | Total                 | $7,424 \pm 0,83$         |
| 2        | Tinto             | Cd    | Lábil inorgánica      | $2,356 \pm 0,338$        |
| 2        | Tinto             | Cd    | Lábil orgánica        | $0,151 \pm 0,352$        |
| 2        | Tinto             | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,385 \pm 0,34$         |
| 2        | Tinto             | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Tinto             | Cd    | No lábil              | $0,016 \pm 0,132$        |
| 2        | Tinto             | Cd    | Particulada           | $1,546 \pm 0,169$        |
| 2        | Tinto             | Cd    | Total                 | $4,454 \pm 0,11$         |
| 2        | Tinto             | Cu    | Lábil inorgánica      | $1,47 \pm 0,71$          |
| 2        | Tinto             | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Tinto             | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Tinto             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $43,37 \pm 6,89$         |
| 2        | Tinto             | Cu    | No lábil              | $0,95 \pm 7,07$          |
| 2        | Tinto             | Cu    | Particulada           | $22,22 \pm 2,18$         |
| 2        | Tinto             | Cu    | Total                 | $68,01 \pm 0,83$         |
| 2        | Tinto             | Zn    | Lábil inorgánica      | $93,09 \pm 14,93$        |
| 2        | Tinto             | Zn    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Tinto             | Zn    | Poco lábil inorgánica | $15,34 \pm 14,96$        |
| 2        | Tinto             | Zn    | Poco lábil orgánica   | $3,15 \pm 21,81$         |
| 2        | Tinto             | Zn    | No lábil              | $16,568 \pm 7,443$       |
| 2        | Tinto             | Zn    | Particulada           | $70,11 \pm 13,80$        |
| 2        | Tinto             | Zn    | Total                 | $198,26 \pm 12,82$       |
| 2        | Padre Santo       | As    | Inorgánica            | $2,017 \pm 0,538$        |
| 2        | Padre Santo       | As    | Orgánica              | $0,761 \pm 0,789$        |
| 2        | Padre Santo       | As    | Particulada           | $0,436 \pm 0,125$        |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 2        | Padre Santo       | As    | Total                 | $3,214 \pm 0,591$        |
| 2        | Padre Santo       | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Padre Santo       | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Padre Santo       | Pb    | No lábil              | $1,031 \pm 0,289$        |
| 2        | Padre Santo       | Pb    | Particulada           | $4,2 \pm 0,935$          |
| 2        | Padre Santo       | Pb    | Total                 | $5,231 \pm 0,889$        |
| 2        | Padre Santo       | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,413 \pm 0,015$        |
| 2        | Padre Santo       | Cd    | Lábil orgánica        | $0,041 \pm 0,024$        |
| 2        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,024 \pm 0,034$        |
| 2        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Padre Santo       | Cd    | No lábil              | $0,043 \pm 0,077$        |
| 2        | Padre Santo       | Cd    | Particulada           | $0,267 \pm 0,105$        |
| 2        | Padre Santo       | Cd    | Total                 | $0,788 \pm 0,078$        |
| 2        | Padre Santo       | Cu    | Lábil inorgánica      | $7,11 \pm 0,23$          |
| 2        | Padre Santo       | Cu    | Lábil orgánica        | $0,10 \pm 0,46$          |
| 2        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil inorgánica | $1,32 \pm 0,29$          |
| 2        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil orgánica   | $2,96 \pm 0,84$          |
| 2        | Padre Santo       | Cu    | No lábil              | $0,11 \pm 1,79$          |
| 2        | Padre Santo       | Cu    | Particulada           | $16,18 \pm 1,98$         |
| 2        | Padre Santo       | Cu    | Total                 | $27,78 \pm 1,08$         |
| 2        | Padre Santo       | Zn    | Lábil inorgánica      | $16,45 \pm 1,63$         |
| 2        | Padre Santo       | Zn    | Lábil orgánica        | $0,32 \pm 2,3$           |
| 2        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil inorgánica | $1,95 \pm 2,48$          |
| 2        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Padre Santo       | Zn    | No lábil              | $5,55 \pm 2,88$          |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 2        | Padre Santo       | Zn    | Particulada           | $28,54 \pm 5,27$         |
| 2        | Padre Santo       | Zn    | Total                 | $52,83 \pm 4,79$         |
| 2        | Desamparados      | As    | Inorgánica            | $0,381 \pm 0,054$        |
| 2        | Desamparados      | As    | Orgánica              | $0,191 \pm 0,054$        |
| 2        | Desamparados      | As    | Particulada           | $0,062 \pm 0$            |
| 2        | Desamparados      | As    | Total                 | $0,634 \pm 0$            |
| 2        | Desamparados      | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Pb    | No lábil              | $0,998 \pm 0,09$         |
| 2        | Desamparados      | Pb    | Particulada           | $8,2 \pm 0,524$          |
| 2        | Desamparados      | Pb    | Total                 | $9,198 \pm 0,516$        |
| 2        | Desamparados      | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,021 \pm 0,014$        |
| 2        | Desamparados      | Cd    | Lábil orgánica        | $0,009 \pm 0,015$        |
| 2        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil orgánica   | $0,005 \pm 0,03$         |
| 2        | Desamparados      | Cd    | No lábil              | $0,221 \pm 0,049$        |
| 2        | Desamparados      | Cd    | Particulada           | $0,199 \pm 0,089$        |
| 2        | Desamparados      | Cd    | Total                 | $0,451 \pm 0,077$        |
| 2        | Desamparados      | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Desamparados      | Cu    | No lábil              | $1,71 \pm 0,32$          |
| 2        | Desamparados      | Cu    | Particulada           | $7,35 \pm 0,84$          |
| 2        | Desamparados      | Cu    | Total                 | $9,06 \pm 0,78$          |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 2        | Desamparados      | Zn    | Lábil inorgánica      | $0,31 \pm 0,06$          |
| 2        | Desamparados      | Zn    | Lábil orgánica        | $2,33 \pm 0,91$          |
| 2        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil inorgánica | $27,49 \pm 1,42$         |
| 2        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil orgánica   | $0,70 \pm 3,26$          |
| 2        | Desamparados      | Zn    | No lábil              | $3,66 \pm 4,00$          |
| 2        | Desamparados      | Zn    | Particulada           | $13,81 \pm 2,92$         |
| 2        | Desamparados      | Zn    | Total                 | $48,30 \pm 0,55$         |
| 2        | Puente Zuazo      | As    | Inorgánica            | $0,457 \pm 0,054$        |
| 2        | Puente Zuazo      | As    | Orgánica              | $0,197 \pm 0,054$        |
| 2        | Puente Zuazo      | As    | Particulada           | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | As    | Total                 | $0,639 \pm 0$            |
| 2        | Puente Zuazo      | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Pb    | Lábil orgánica        | $0,176 \pm 0,008$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Pb    | Poco lábil orgánica   | $0,306 \pm 0,086$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Pb    | No lábil              | $2,309 \pm 0,117$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Pb    | Particulada           | $2,965 \pm 0,355$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Pb    | Total                 | $5,757 \pm 0,346$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,011 \pm 0,012$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Cd    | Lábil orgánica        | $0,01 \pm 0,013$         |
| 2        | Puente Zuazo      | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,024 \pm 0,018$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Cd    | Particulada           | $0,091 \pm 0,081$        |
| 2        | Puente Zuazo      | Cd    | Total                 | $0,136 \pm 0,05$         |
| 2        | Puente Zuazo      | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Cu    | Lábil orgánica        | $0,16 \pm 0,15$          |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 2        | Puente Zuazo      | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Cu    | Poco lábil orgánica   | $0,20 \pm 0,50$          |
| 2        | Puente Zuazo      | Cu    | No lábil              | $0,61 \pm 0,65$          |
| 2        | Puente Zuazo      | Cu    | Particulada           | $1,55 \pm 0,70$          |
| 2        | Puente Zuazo      | Cu    | Total                 | $2,51 \pm 0,55$          |
| 2        | Puente Zuazo      | Zn    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Zn    | Lábil orgánica        | $0,16 \pm 0,01$          |
| 2        | Puente Zuazo      | Zn    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 2        | Puente Zuazo      | Zn    | Poco lábil orgánica   | $0,01 \pm 0,084$         |
| 2        | Puente Zuazo      | Zn    | No lábil              | $9,72 \pm 0,91$          |
| 2        | Puente Zuazo      | Zn    | Particulada           | $2,35 \pm 1,80$          |
| 2        | Puente Zuazo      | Zn    | Total                 | $12,24 \pm 1,56$         |
| 3        | Odiel             | As    | Inorgánica            | $5,86 \pm 0,161$         |
| 3        | Odiel             | As    | Orgánica              | $2,493 \pm 1,056$        |
| 3        | Odiel             | As    | Particulada           | $0,901 \pm 0,039$        |
| 3        | Odiel             | As    | Total                 | $9,254 \pm 1,045$        |
| 3        | Odiel             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Pb    | No lábil              | $5,01 \pm 0,69$          |
| 3        | Odiel             | Pb    | Particulada           | $12,831 \pm 0,888$       |
| 3        | Odiel             | Pb    | Total                 | $17,841 \pm 0,559$       |
| 3        | Odiel             | Cd    | Lábil inorgánica      | $1,199 \pm 0,075$        |
| 3        | Odiel             | Cd    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 3        | Odiel             | Cd    | No lábil              | $0,295 \pm 0,21$         |
| 3        | Odiel             | Cd    | Particulada           | $0,083 \pm 0,243$        |
| 3        | Odiel             | Cd    | Total                 | $1,577 \pm 0,143$        |
| 3        | Odiel             | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Cu    | Poco lábil inorgánica | $22,37 \pm 1,03$         |
| 3        | Odiel             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $6,62 \pm 1,50$          |
| 3        | Odiel             | Cu    | No lábil              | $2,65 \pm 3,80$          |
| 3        | Odiel             | Cu    | Particulada           | $25,06 \pm 4,78$         |
| 3        | Odiel             | Cu    | Total                 | $56,70 \pm 3,10$         |
| 3        | Odiel             | Zn    | Lábil inorgánica      | $86,57 \pm 2,93$         |
| 3        | Odiel             | Zn    | Lábil orgánica        | $6,74 \pm 8,42$          |
| 3        | Odiel             | Zn    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 3        | Odiel             | Zn    | No lábil              | $24,12 \pm 12,13$        |
| 3        | Odiel             | Zn    | Particulada           | $7,49 \pm 19,35$         |
| 3        | Odiel             | Zn    | Total                 | $124,92 \pm 17,02$       |
| 3        | Tinto             | As    | Inorgánica            | $4,186 \pm 0,268$        |
| 3        | Tinto             | As    | Orgánica              | $2,691 \pm 0,274$        |
| 3        | Tinto             | As    | Particulada           | $0,581 \pm 0,077$        |
| 3        | Tinto             | As    | Total                 | $7,458 \pm 0,094$        |
| 3        | Tinto             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Pb    | No lábil              | $1,933 \pm 0,564$        |
| 3        | Tinto             | Pb    | Particulada           | $1,583 \pm 0,602$        |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 3        | Tinto             | Pb    | Total                 | $3,516 \pm 0,211$        |
| 3        | Tinto             | Cd    | Lábil inorgánica      | $1,107 \pm 0,088$        |
| 3        | Tinto             | Cd    | Lábil orgánica        | $0,265 \pm 0,28$         |
| 3        | Tinto             | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Cd    | No lábil              | $0,514 \pm 0,401$        |
| 3        | Tinto             | Cd    | Particulada           | $0,327 \pm 1,176$        |
| 3        | Tinto             | Cd    | Total                 | $2,213 \pm 1,137$        |
| 3        | Tinto             | Cu    | Lábil inorgánica      | $7,57 \pm 0,38$          |
| 3        | Tinto             | Cu    | Lábil orgánica        | $0,56 \pm 0,52$          |
| 3        | Tinto             | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $11,56 \pm 1,22$         |
| 3        | Tinto             | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Cu    | Particulada           | $27,57 \pm 3,26$         |
| 3        | Tinto             | Cu    | Total                 | $47,27 \pm 3,09$         |
| 3        | Tinto             | Zn    | Lábil inorgánica      | $60,59 \pm 3,10$         |
| 3        | Tinto             | Zn    | Lábil orgánica        | $7,10 \pm 3,40$          |
| 3        | Tinto             | Zn    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Tinto             | Zn    | Poco lábil orgánica   | $3,77 \pm 8,93$          |
| 3        | Tinto             | Zn    | No lábil              | $18,37 \pm 8,39$         |
| 3        | Tinto             | Zn    | Particulada           | $29,96 \pm 6,77$         |
| 3        | Tinto             | Zn    | Total                 | $119,79 \pm 5,84$        |
| 3        | Padre Santo       | As    | Inorgánica            | $4,861 \pm 0,058$        |
| 3        | Padre Santo       | As    | Orgánica              | $1,161 \pm 0,08$         |
| 3        | Padre Santo       | As    | Particulada           | $0,136 \pm 0,016$        |
| 3        | Padre Santo       | As    | Total                 | $6,158 \pm 0,057$        |
| 3        | Padre Santo       | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |



**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 3        | Padre Santo       | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 3        | Padre Santo       | Pb    | No lábil              | $3,836 \pm 0,423$        |
| 3        | Padre Santo       | Pb    | Particulada           | $1,859 \pm 0,48$         |
| 3        | Padre Santo       | Pb    | Total                 | $5,695 \pm 0,226$        |
| 3        | Padre Santo       | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,369 \pm 0,043$        |
| 3        | Padre Santo       | Cd    | Lábil orgánica        | $0,075 \pm 0,044$        |
| 3        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,041 \pm 0,075$        |
| 3        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 3        | Padre Santo       | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 3        | Padre Santo       | Cd    | Particulada           | $0,215 \pm 0,305$        |
| 3        | Padre Santo       | Cd    | Total                 | $0,699 \pm 0,304$        |
| 3        | Padre Santo       | Cu    | Lábil inorgánica      | $5,01 \pm 0,49$          |
| 3        | Padre Santo       | Cu    | Lábil orgánica        | $0,49 \pm 1,17$          |
| 3        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil inorgánica | $1,32 \pm 0,62$          |
| 3        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil orgánica   | $2,17 \pm 1,33$          |
| 3        | Padre Santo       | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 3        | Padre Santo       | Cu    | Particulada           | $13,25 \pm 1,23$         |
| 3        | Padre Santo       | Cu    | Total                 | $22,24 \pm 1,118$        |
| 3        | Padre Santo       | Zn    | Lábil inorgánica      | $22,28 \pm 1,72$         |
| 3        | Padre Santo       | Zn    | Lábil orgánica        | $3,08 \pm 2,46$          |
| 3        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil inorgánica | $3 \pm 2,46$             |
| 3        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil orgánica   | $0,24 \pm 3,96$          |
| 3        | Padre Santo       | Zn    | No lábil              | $9,72 \pm 5,04$          |
| 3        | Padre Santo       | Zn    | Particulada           | $11,43 \pm 13,04$        |
| 3        | Padre Santo       | Zn    | Total                 | $49,75 \pm 12,29$        |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 3        | Desamparados      | As    | Inorgánica            | $0,572 \pm 0,231$        |
| 3        | Desamparados      | As    | Orgánica              | $0,283 \pm 0,256$        |
| 3        | Desamparados      | As    | Particulada           | $0,397 \pm 0,024$        |
| 3        | Desamparados      | As    | Total                 | $1,251 \pm 0,112$        |
| 3        | Desamparados      | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil orgánica   | $0,213 \pm 0,096$        |
| 3        | Desamparados      | Pb    | No lábil              | $1,24 \pm 0,193$         |
| 3        | Desamparados      | Pb    | Particulada           | $3,234 \pm 0,667$        |
| 3        | Desamparados      | Pb    | Total                 | $4,688 \pm 0,645$        |
| 3        | Desamparados      | Cd    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cd    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cd    | Particulada           | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cd    | Total                 | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cu    | Lábil inorgánica      | $0,24 \pm 0,024$         |
| 3        | Desamparados      | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil inorgánica | $0,07 \pm 0,04$          |
| 3        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil orgánica   | $0,45 \pm 0,17$          |
| 3        | Desamparados      | Cu    | No lábil              | $1,85 \pm 0,28$          |
| 3        | Desamparados      | Cu    | Particulada           | $4 \pm 0,40$             |
| 3        | Desamparados      | Cu    | Total                 | $6,61 \pm 0,33$          |
| 3        | Desamparados      | Zn    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Zn    | Lábil orgánica        | n.d.                     |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 3        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 3        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil orgánica   | $8,30 \pm 1,42$          |
| 3        | Desamparados      | Zn    | No lábil              | $4,63 \pm 2,29$          |
| 3        | Desamparados      | Zn    | Particulada           | $7,61 \pm 2,67$          |
| 3        | Desamparados      | Zn    | Total                 | $20,54 \pm 1,97$         |
| 4        | Odiel             | As    | Inorgánica            | $2,369 \pm 0,116$        |
| 4        | Odiel             | As    | Orgánica              | $0,272 \pm 0,116$        |
| 4        | Odiel             | As    | Particulada           | $0,285 \pm 0,016$        |
| 4        | Odiel             | As    | Total                 | $2,927 \pm 0,016$        |
| 4        | Odiel             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Pb    | Poco lábil inorgánica | $0,107 \pm 0,039$        |
| 4        | Odiel             | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Pb    | No lábil              | $2,099 \pm 0,286$        |
| 4        | Odiel             | Pb    | Particulada           | $3,975 \pm 0,448$        |
| 4        | Odiel             | Pb    | Total                 | $6,18 \pm 0,347$         |
| 4        | Odiel             | Cd    | Lábil inorgánica      | $1,904 \pm 0,079$        |
| 4        | Odiel             | Cd    | Lábil orgánica        | $0,033 \pm 0,12$         |
| 4        | Odiel             | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,325 \pm 1,001$        |
| 4        | Odiel             | Cd    | Poco lábil orgánica   | $0,092 \pm 1,023$        |
| 4        | Odiel             | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Cd    | Particulada           | $6,562 \pm 1,085$        |
| 4        | Odiel             | Cd    | Total                 | $8,916 \pm 1,068$        |
| 4        | Odiel             | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Cu    | Poco lábil inorgánica | $10,49 \pm 3,29$         |
| 4        | Odiel             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $7,29 \pm 3,74$          |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 4        | Odiel             | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Cu    | Particulada           | $36,96 \pm 4$            |
| 4        | Odiel             | Cu    | Total                 | $54,74 \pm 3,58$         |
| 4        | Odiel             | Zn    | Lábil inorgánica      | $48,85 \pm 1,98$         |
| 4        | Odiel             | Zn    | Lábil orgánica        | $20,23 \pm 3,51$         |
| 4        | Odiel             | Zn    | Poco lábil inorgánica | $61,23 \pm 3,41$         |
| 4        | Odiel             | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Zn    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Odiel             | Zn    | Particulada           | $251,27 \pm 19,33$       |
| 4        | Odiel             | Zn    | Total                 | $381,58 \pm 16,02$       |
| 4        | Tinto             | As    | Inorgánica            | $4,82 \pm 0,116$         |
| 4        | Tinto             | As    | Orgánica              | $0,269 \pm 0,201$        |
| 4        | Tinto             | As    | Particulada           | $0,216 \pm 0$            |
| 4        | Tinto             | As    | Total                 | $5,305 \pm 0,165$        |
| 4        | Tinto             | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Pb    | Poco lábil orgánica   | $0,258 \pm 0,098$        |
| 4        | Tinto             | Pb    | No lábil              | $1,239 \pm 0,129$        |
| 4        | Tinto             | Pb    | Particulada           | $3,552 \pm 0,489$        |
| 4        | Tinto             | Pb    | Total                 | $5,049 \pm 0,482$        |
| 4        | Tinto             | Cd    | Lábil inorgánica      | $2,378 \pm 0,248$        |
| 4        | Tinto             | Cd    | Lábil orgánica        | $0,11 \pm 0,268$         |
| 4        | Tinto             | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,487 \pm 0,607$        |
| 4        | Tinto             | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Cd    | Particulada           | $3,871 \pm 0,548$        |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 4        | Tinto             | Cd    | Total                 | $6,845 \pm 0,487$        |
| 4        | Tinto             | Cu    | Lábil inorgánica      | $0,50 \pm 0,01$          |
| 4        | Tinto             | Cu    | Lábil orgánica        | $0,02 \pm 0,05$          |
| 4        | Tinto             | Cu    | Poco lábil inorgánica | $7,64 \pm 2,65$          |
| 4        | Tinto             | Cu    | Poco lábil orgánica   | $10,42 \pm 3,67$         |
| 4        | Tinto             | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Cu    | Particulada           | $53,82 \pm 5,99$         |
| 4        | Tinto             | Cu    | Total                 | $72,39 \pm 5,43$         |
| 4        | Tinto             | Zn    | Lábil inorgánica      | $19,32 \pm 10,18$        |
| 4        | Tinto             | Zn    | Lábil orgánica        | $30,65 \pm 12,93$        |
| 4        | Tinto             | Zn    | Poco lábil inorgánica | $44,64 \pm 14,60$        |
| 4        | Tinto             | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Zn    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Tinto             | Zn    | Particulada           | $157,35 \pm 15,44$       |
| 4        | Tinto             | Zn    | Total                 | $251,97 \pm 12,94$       |
| 4        | Padre Santo       | As    | Inorgánica            | $2,451 \pm 0,116$        |
| 4        | Padre Santo       | As    | Orgánica              | $0,152 \pm 0,402$        |
| 4        | Padre Santo       | As    | Particulada           | $0,013 \pm 0,006$        |
| 4        | Padre Santo       | As    | Total                 | $2,616 \pm 0,385$        |
| 4        | Padre Santo       | Pb    | Lábil inorgánica      | $0,128 \pm 0,02$         |
| 4        | Padre Santo       | Pb    | Lábil orgánica        | $0,034 \pm 0,024$        |
| 4        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil inorgánica | $0,236 \pm 0,069$        |
| 4        | Padre Santo       | Pb    | Poco lábil orgánica   | $0,525 \pm 0,194$        |
| 4        | Padre Santo       | Pb    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Padre Santo       | Pb    | Particulada           | $5,29 \pm 0,451$         |
| 4        | Padre Santo       | Pb    | Total                 | $6,212 \pm 0,413$        |
| 4        | Padre Santo       | Cd    | Lábil inorgánica      | $0,519 \pm 0,028$        |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 4        | Padre Santo       | Cd    | Lábil orgánica        | $0,074 \pm 0,031$        |
| 4        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil inorgánica | $0,337 \pm 0,109$        |
| 4        | Padre Santo       | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Padre Santo       | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Padre Santo       | Cd    | Particulada           | $0,723 \pm 0,163$        |
| 4        | Padre Santo       | Cd    | Total                 | $1,653 \pm 0,157$        |
| 4        | Padre Santo       | Cu    | Lábil inorgánica      | $1,87 \pm 0,98$          |
| 4        | Padre Santo       | Cu    | Lábil orgánica        | $0,86 \pm 1,13$          |
| 4        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil inorgánica | $3,67 \pm 2,16$          |
| 4        | Padre Santo       | Cu    | Poco lábil orgánica   | $3,87 \pm 2,24$          |
| 4        | Padre Santo       | Cu    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Padre Santo       | Cu    | Particulada           | $47,47 \pm 3,33$         |
| 4        | Padre Santo       | Cu    | Total                 | $57,73 \pm 3,33$         |
| 4        | Padre Santo       | Zn    | Lábil inorgánica      | $24,37 \pm 1,35$         |
| 4        | Padre Santo       | Zn    | Lábil orgánica        | $1,71 \pm 2,92$          |
| 4        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil inorgánica | $18,82 \pm 3,51$         |
| 4        | Padre Santo       | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Padre Santo       | Zn    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Padre Santo       | Zn    | Particulada           | $63,84 \pm 12,06$        |
| 4        | Padre Santo       | Zn    | Total                 | $108,75 \pm 11,31$       |
| 4        | Desamparados      | As    | Inorgánica            | $1,43 \pm 0,058$         |
| 4        | Desamparados      | As    | Orgánica              | $0,046 \pm 0,058$        |
| 4        | Desamparados      | As    | Particulada           | $0,012 \pm 0,011$        |
| 4        | Desamparados      | As    | Total                 | $1,488 \pm 0,011$        |
| 4        | Desamparados      | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 4        | Desamparados      | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Pb    | No lábil              | $2,117 \pm 0,762$        |
| 4        | Desamparados      | Pb    | Particulada           | $0,102 \pm 0,875$        |
| 4        | Desamparados      | Pb    | Total                 | $2,219 \pm 0,43$         |
| 4        | Desamparados      | Cd    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cd    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cd    | No lábil              | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cd    | Particulada           | $0,123 \pm 0,073$        |
| 4        | Desamparados      | Cd    | Total                 | $0,123 \pm 0,073$        |
| 4        | Desamparados      | Cu    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cu    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cu    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Cu    | No lábil              | $3,03 \pm 1,86$          |
| 4        | Desamparados      | Cu    | Particulada           | $1,29 \pm 2,60$          |
| 4        | Desamparados      | Cu    | Total                 | $4,32 \pm 1,82$          |
| 4        | Desamparados      | Zn    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Zn    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Desamparados      | Zn    | No lábil              | $3,71 \pm 0,67$          |
| 4        | Desamparados      | Zn    | Particulada           | $5,36 \pm 1,91$          |
| 4        | Desamparados      | Zn    | Total                 | $9,07 \pm 1,78$          |
| 4        | Puente Zuazo      | As    | Inorgánica            | $0,327 \pm 0$            |
| 4        | Puente Zuazo      | As    | Orgánica              | $0,062 \pm 0$            |

**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN              | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-----------------------|--------------------------|
| 4        | Puente Zuazo      | As    | Particulada           | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | As    | Total                 | $0,379 \pm 0,021$        |
| 4        | Puente Zuazo      | Pb    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Pb    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Pb    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Pb    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Pb    | No lábil              | $1,054 \pm 0,06$         |
| 4        | Puente Zuazo      | Pb    | Particulada           | $0,972 \pm 0,516$        |
| 4        | Puente Zuazo      | Pb    | Total                 | $2,026 \pm 0,513$        |
| 4        | Puente Zuazo      | Cd    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Cd    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Cd    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Cd    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Cd    | No lábil              | $0,07 \pm 0,095$         |
| 4        | Puente Zuazo      | Cd    | Particulada           | $0,046 \pm 0,096$        |
| 4        | Puente Zuazo      | Cd    | Total                 | $0,116 \pm 0,016$        |
| 4        | Puente Zuazo      | Cu    | Lábil inorgánica      | $0,02 \pm 0,02$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Cu    | Lábil orgánica        | $0,64 \pm 0,08$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Cu    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Cu    | Poco lábil orgánica   | $0,19 \pm 0,25$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Cu    | No lábil              | $1,21 \pm 0,23$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Cu    | Particulada           | $1,95 \pm 0,51$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Cu    | Total                 | $4,00 \pm 0,48$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Zn    | Lábil inorgánica      | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Zn    | Lábil orgánica        | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Zn    | Poco lábil inorgánica | n.d.                     |
| 4        | Puente Zuazo      | Zn    | Poco lábil orgánica   | n.d.                     |



**TABLA A.15 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Pb, Cd, Cu y Zn en agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | METAL | FRACCIÓN    | ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |
|----------|-------------------|-------|-------------|--------------------------|
| 4        | Puente Zuazo      | Zn    | No lábil    | $4,28 \pm 0,14$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Zn    | Particulada | $1,87 \pm 0,63$          |
| 4        | Puente Zuazo      | Zn    | Total       | $6,15 \pm 0,61$          |

### A.3.2. DATOS DE CONCENTRACIÓN DE LA ESPECIACIÓN METÁLICA EN LAS MUESTRAS DE SEDIMENTO

**TABLA A.16.** Datos de concentración de la especiación As, Zn, Cd, Pb, Cu en sedimento ( $\text{mg/Kg}$ ).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | FRACCIÓN       | As     | Pb     | Cd   | Cu     | Zn      |
|----------|-------------------|----------------|--------|--------|------|--------|---------|
| 1        | Odiel             | Intercambiable | 4,50   | 6,44   | 0,89 | 258,07 | 401,10  |
| 1        | Odiel             | Reducible      | 19,79  | 54,63  | 0,17 | 96,13  | 154,92  |
| 1        | Odiel             | Oxidable       | 10,11  | 64,83  | 0,26 | 279,93 | 118,80  |
| 1        | Odiel             | Residuo        | 150,16 | 27,59  | 0,09 | 81,97  | 140,71  |
| 1        | Tinto             | Intercambiable | 2,77   | 2,46   | 3,13 | 343,95 | 1076,50 |
| 1        | Tinto             | Reducible      | 14,69  | 44,73  | 0,25 | 77,32  | 374,83  |
| 1        | Tinto             | Oxidable       | 26,55  | 85,79  | 0,11 | 642,24 | 184,80  |
| 1        | Tinto             | Residuo        | 201,58 | 126,46 | 0,10 | 105,43 | 176,60  |
| 1        | Padre Santo       | Intercambiable | 3,36   | 0,15   | 1,00 | 269,21 | 860,22  |
| 1        | Padre Santo       | Reducible      | 38,53  | 101,44 | 0,21 | 150,73 | 423,88  |
| 1        | Padre Santo       | Oxidable       | 23,14  | 132,15 | 0,26 | 815,53 | 160,86  |
| 1        | Padre Santo       | Residuo        | 226,31 | 168,43 | 0,25 | 152,01 | 261,85  |
| 1        | Desamparados      | Intercambiable | 3,38   | 2,13   | 0,09 | n.d.   | 4,48    |
| 1        | Desamparados      | Reducible      | 1,76   | 2,20   | 0,02 | n.d.   | 5,64    |
| 1        | Desamparados      | Oxidable       | 1,28   | 6,20   | 0,02 | 10,39  | 7,72    |
| 1        | Desamparados      | Residuo        | 4,21   | 5,84   | 0,02 | 15,96  | 27,59   |
| 1        | Puente Zuazo      | Intercambiable | 1,47   | 1,15   | 0,10 | n.d.   | 10,86   |
| 1        | Puente Zuazo      | Reducible      | 1,88   | 11,04  | 0,05 | 5,76   | 30,88   |
| 1        | Puente Zuazo      | Oxidable       | 0,80   | 3,60   | 0,02 | 1,75   | 15,20   |
| 1        | Puente Zuazo      | Residuo        | 17,30  | 12,43  | 0,40 | 80,93  | 52,00   |
| 2        | Odiel             | Intercambiable | 45,34  | 0,10   | 4,22 | 282,68 | 910,44  |

**TABLA A.16 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Zn, Cd, Pb, Cu en sedimento (mg/Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | FRACCIÓN       | As     | Pb     | Cd   | Cu      | Zn      |
|----------|-------------------|----------------|--------|--------|------|---------|---------|
| 2        | Odiel             | Reducible      | 169,18 | 74,71  | 2,73 | 128,58  | 303,19  |
| 2        | Odiel             | Oxidable       | 15,50  | 795,67 | 4,97 | 1103,50 | 331,87  |
| 2        | Odiel             | Residuo        | 620,91 | 525,63 | 1,13 | 185,97  | 474,55  |
| 2        | Tinto             | Intercambiable | 41,33  | 5,01   | 1,37 | 209,71  | 444,35  |
| 2        | Tinto             | Reducible      | 75,33  | 112,78 | 0,05 | 128,53  | 213,83  |
| 2        | Tinto             | Oxidable       | 1,55   | 173,01 | 0,12 | 367,37  | 117,83  |
| 2        | Tinto             | Residuo        | 239,22 | 61,97  | 0,09 | 110,91  | 99,56   |
| 2        | Padre Santo       | Intercambiable | 29,12  | 12,31  | 1,54 | 141,38  | 851,52  |
| 2        | Padre Santo       | Reducible      | 167,18 | 213,07 | 0,09 | 52,12   | 313,89  |
| 2        | Padre Santo       | Oxidable       | 102,41 | 505,20 | 1,56 | 890,44  | 282,26  |
| 2        | Padre Santo       | Residuo        | 654,81 | 376,17 | 0,80 | 237,10  | 370,23  |
| 2        | Desamparados      | Intercambiable | n.d.   | 3,31   | 0,07 | n.d.    | 5,26    |
| 2        | Desamparados      | Reducible      | 2,00   | 5,87   | 0,03 | n.d.    | 15,22   |
| 2        | Desamparados      | Oxidable       | 1,52   | 11,46  | 0,05 | 10,13   | 14,62   |
| 2        | Desamparados      | Residuo        | 7,05   | 16,50  | 0,21 | 21,47   | 76,61   |
| 2        | Puente Zuazo      | Intercambiable | 0,05   | n.d.   | n.d. | 0,13    | 10,02   |
| 2        | Puente Zuazo      | Reducible      | 2,50   | 9,06   | 0,03 | n.d.    | 33,04   |
| 2        | Puente Zuazo      | Oxidable       | 0,24   | 6,72   | 0,06 | 21,15   | 40,51   |
| 2        | Puente Zuazo      | Residuo        | 7,68   | 9,18   | 0,02 | 22,37   | 43,25   |
| 3        | Odiel             | Intercambiable | 38,36  | 0,14   | 4,13 | 198,41  | 947,24  |
| 3        | Odiel             | Reducible      | 57,14  | 108,26 | 0,30 | 63,21   | 473,64  |
| 3        | Odiel             | Oxidable       | 29,68  | 498,86 | 0,75 | 671,04  | 194,77  |
| 3        | Odiel             | Residuo        | 408,41 | 292,60 | 1,31 | 246,65  | 492,47  |
| 3        | Tinto             | Intercambiable | 65,66  | n.d.   | 4,24 | 304,35  | 887,91  |
| 3        | Tinto             | Reducible      | 438,20 | 391,78 | 0,32 | 328,00  | 391,83  |
| 3        | Tinto             | Oxidable       | 120,87 | 427,21 | 0,93 | 772,30  | 154,27  |
| 3        | Tinto             | Residuo        | 267,57 | 522,90 | 0,75 | 3519,39 | 345,72  |
| 3        | Padre Santo       | Intercambiable | 15,39  | 3,17   | 2,80 | 647,20  | 1104,88 |
| 3        | Padre Santo       | Reducible      | 375,07 | 462,89 | 2,27 | 452,94  | 426,35  |
| 3        | Padre Santo       | Oxidable       | 93,06  | 522,56 | 0,62 | 307,61  | 171,11  |
| 3        | Padre Santo       | Residuo        | 347,23 | 222,92 | 1,16 | 166,29  | 428,96  |
| 3        | Desamparados      | Intercambiable | n.d.   | 0,33   | 0,06 | n.d.    | 2,99    |

**TABLA A.16 (cont.).** Datos de concentración de la especiación As, Zn, Cd, Pb, Cu en sedimento (mg/Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | FRACCIÓN       | As     | Pb     | Cd   | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|----------------|--------|--------|------|--------|--------|
| 3        | Desamparados      | Reducible      | 1,04   | 1,66   | 0,02 | n.d.   | 3,75   |
| 3        | Desamparados      | Oxidable       | 0,00   | 4,54   | 0,03 | 11,48  | 21,42  |
| 3        | Desamparados      | Residuo        | 11,75  | 7,74   | 0,02 | 17,54  | 76,22  |
| 4        | Odiel             | Intercambiable | 2,28   | 1,96   | 1,15 | 108,88 | 561,95 |
| 4        | Odiel             | Reducible      | 16,87  | 3,93   | 0,17 | 7,76   | 144,32 |
| 4        | Odiel             | Oxidable       | 5,55   | 41,28  | 0,55 | 597,78 | 152,70 |
| 4        | Odiel             | Residuo        | 300,04 | 207,75 | 0,32 | 112,70 | 295,96 |
| 4        | Tinto             | Intercambiable | 0,59   | 2,67   | 0,88 | 206,50 | 705,61 |
| 4        | Tinto             | Reducible      | 4,29   | 21,13  | 0,38 | 5,61   | 257,15 |
| 4        | Tinto             | Oxidable       | 4,28   | 32,74  | 0,81 | 971,48 | 188,45 |
| 4        | Tinto             | Residuo        | 353,42 | 413,44 | 0,21 | 246,07 | 309,04 |
| 4        | Padre Santo       | Intercambiable | 0,07   | 3,92   | 0,99 | 140,48 | 641,05 |
| 4        | Padre Santo       | Reducible      | 26,53  | 69,96  | 0,25 | 209,03 | 326,60 |
| 4        | Padre Santo       | Oxidable       | 1,72   | 16,39  | 0,14 | 104,85 | 57,61  |
| 4        | Padre Santo       | Residuo        | 224,50 | 131,00 | 0,21 | 161,12 | 158,54 |
| 4        | Desamparados      | Intercambiable | n.d.   | 0,05   | 0,05 | n.d.   | n.d    |
| 4        | Desamparados      | Reducible      | 1,13   | 2,86   | 0,02 | n.d.   | 3,50   |
| 4        | Desamparados      | Oxidable       | 0,28   | 8,92   | 0,03 | 11,24  | 16,65  |
| 4        | Desamparados      | Residuo        | 15,08  | 11,06  | 0,03 | 14,76  | 62,81  |
| 4        | Puente Zuazo      | Intercambiable | 0,18   | n.d.   | n.d. | n.d.   | 7,90   |
| 4        | Puente Zuazo      | Reducible      | 1,12   | 8,48   | 0,05 | n.d.   | 32,34  |
| 4        | Puente Zuazo      | Oxidable       | 0,00   | 14,93  | 0,04 | 20,24  | 21,19  |
| 4        | Puente Zuazo      | Residuo        | 10,73  | 32,40  | 0,02 | 27,67  | 70,53  |

### A.3.3. DATOS DE CONCENTRACIÓN METÁLICA EN LAS MUESTRAS DE PECES

**TABLA A.17.** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 1        | Odiel             | 1                | D  | B                   | 3,816  | 3,012 | 0,161 | 3,65   | 75,66  |
| 1        | Odiel             | 1                | D  | H                   | 4,623  | 0,869 | 1,141 | 27,69  | 172,26 |
| 1        | Odiel             | 1                | D  | M                   | 8,557  | 0,076 | 0,005 | 2,31   | 33,75  |
| 1        | Odiel             | 2                | D  | B                   | 6,043  | 3,438 | 0,171 | 3,05   | 98,50  |
| 1        | Odiel             | 2                | D  | H                   | 5,166  | n.d.  | n.d.  | 343,28 | 305,67 |
| 1        | Odiel             | 2                | D  | M                   | 8,623  | 0,101 | 0,005 | 1,52   | 20,52  |
| 1        | Odiel             | 16               | L  | B                   | 3,071  | 2,929 | 0,555 | 4,81   | 67,52  |
| 1        | Odiel             | 16               | L  | H                   | 4,332  | 1,332 | 0,871 | 397,71 | 127,07 |
| 1        | Odiel             | 16               | L  | M                   | 4,841  | 0,078 | 0,002 | 0,61   | 17,22  |
| 1        | Odiel             | 17               | L  | B                   | 4,264  | 4,016 | 0,250 | 3,48   | 64,92  |
| 1        | Odiel             | 17               | L  | H                   | 5,909  | 1,582 | 0,513 | 115,08 | 121,74 |
| 1        | Odiel             | 17               | L  | M                   | 7,707  | 0,154 | 0,003 | 0,50   | 22,05  |
| 1        | Odiel             | 18               | L  | B                   | 5,121  | 5,466 | 0,337 | 8,05   | 72,80  |
| 1        | Odiel             | 18               | L  | H                   | 6,792  | 1,924 | 1,481 | 360,67 | 141,09 |
| 1        | Odiel             | 18               | L  | M                   | 5,197  | 0,207 | 0,005 | 0,83   | 25,09  |
| 1        | Odiel             | 22               | L  | B                   | 4,648  | 3,991 | 0,386 | 4,31   | 66,96  |
| 1        | Odiel             | 22               | L  | H                   | 9,596  | 1,990 | 1,208 | 122,89 | 116,78 |
| 1        | Odiel             | 22               | L  | M                   | 6,225  | 0,261 | 0,006 | 0,89   | 22,67  |
| 1        | Odiel             | 23               | L  | B                   | 4,740  | 4,015 | 0,532 | 5,15   | 61,32  |
| 1        | Odiel             | 23               | L  | H                   | 5,313  | 1,287 | 0,703 | 154,63 | 107,81 |
| 1        | Odiel             | 23               | L  | M                   | 8,174  | 0,088 | 0,003 | 0,49   | 17,43  |
| 1        | Desamparados      | 10               | D  | B                   | 7,494  | 0,188 | 0,002 | 1,71   | 83,66  |
| 1        | Desamparados      | 10               | D  | H                   | 7,064  | 0,059 | 0,060 | 21,55  | 129,85 |
| 1        | Desamparados      | 10               | D  | M                   | 34,760 | n.d.  | n.d.  | 0,40   | 18,78  |
| 1        | Desamparados      | 11               | D  | B                   | 4,360  | 0,989 | 0,004 | 1,84   | 75,19  |
| 1        | Desamparados      | 11               | D  | H                   | 8,763  | 1,219 | 0,109 | 25,56  | 203,42 |
| 1        | Desamparados      | 11               | D  | M                   | 34,989 | n.d.  | n.d.  | 0,32   | 20,45  |
| 1        | Desamparados      | 12               | D  | B                   | 11,209 | 0,201 | 0,005 | 1,96   | 77,53  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado

<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 1        | Desamparados      | 12               | D  | H                   | 12,727 | 0,208 | 0,059 | 26,24  | 132,55 |
| 1        | Desamparados      | 12               | D  | M                   | 49,701 | n.d.  | n.d.  | 0,59   | 56,33  |
| 1        | Desamparados      | 13               | D  | B                   | 7,957  | 0,309 | 0,002 | 1,80   | 73,87  |
| 1        | Desamparados      | 13               | D  | H                   | 14,402 | 0,163 | 0,082 | 66,95  | 164,37 |
| 1        | Desamparados      | 13               | D  | M                   | 45,556 | 0,007 | n.d.  | 0,51   | 38,69  |
| 1        | Desamparados      | 15               | D  | B                   | 7,720  | 0,247 | 0,002 | 1,65   | 80,30  |
| 1        | Desamparados      | 15               | D  | H                   | 8,266  | 0,072 | 0,084 | 13,20  | 87,14  |
| 1        | Desamparados      | 15               | D  | M                   | 49,340 | n.d.  | n.d.  | 0,39   | 22,41  |
| 1        | Desamparados      | 1                | D  | B                   | 7,472  | 0,833 | 0,002 | 1,72   | 92,68  |
| 1        | Desamparados      | 1                | D  | H                   | 7,058  | 0,403 | 0,070 | 7,45   | 95,07  |
| 1        | Desamparados      | 1                | D  | M                   | 40,137 | 1,396 | 0,001 | 0,87   | 28,21  |
| 1        | Desamparados      | 2                | D  | B                   | 7,414  | 0,484 | 0,002 | 1,06   | 84,73  |
| 1        | Desamparados      | 2                | D  | H                   | 8,796  | 0,925 | 0,139 | 23,11  | 137,04 |
| 1        | Desamparados      | 2                | D  | M                   | 23,897 | n.d.  | 0,001 | 0,22   | 28,55  |
| 1        | Desamparados      | 3                | D  | B                   | 8,070  | 0,106 | 0,004 | 0,85   | 60,46  |
| 1        | Desamparados      | 3                | D  | H                   | 5,816  | 0,052 | 0,068 | 3,46   | 85,88  |
| 1        | Desamparados      | 3                | D  | M                   | 40,994 | 0,019 | n.d.  | 0,53   | 52,70  |
| 1        | Desamparados      | 4                | D  | B                   | 8,213  | 0,668 | 0,002 | 1,39   | 91,38  |
| 1        | Desamparados      | 4                | D  | H                   | 7,442  | 0,355 | 0,102 | 9,46   | 782,60 |
| 1        | Desamparados      | 4                | D  | M                   | 44,995 | n.d.  | n.d.  | 0,60   | 41,52  |
| 1        | Desamparados      | 6                | D  | B                   | 6,234  | 0,397 | 0,003 | 1,67   | 92,36  |
| 1        | Desamparados      | 6                | D  | H                   | 5,159  | 0,140 | 0,049 | 5,91   | 66,73  |
| 1        | Desamparados      | 6                | D  | M                   | 21,452 | n.d.  | n.d.  | 0,40   | 14,90  |
| 1        | Desamparados      | 7                | D  | B                   | 9,436  | 0,657 | 0,002 | 1,60   | 79,65  |
| 1        | Desamparados      | 7                | D  | H                   | 12,716 | 0,533 | 0,203 | 22,04  | 151,65 |
| 1        | Desamparados      | 7                | D  | M                   | 67,319 | n.d.  | n.d.  | 0,71   | 18,76  |
| 1        | Desamparados      | 9                | D  | B                   | 9,685  | 0,309 | 0,001 | 0,96   | 64,96  |
| 1        | Desamparados      | 9                | D  | H                   | 11,940 | 0,507 | 0,113 | 80,47  | 199,08 |
| 1        | Desamparados      | 9                | D  | M                   | 32,505 | n.d.  | n.d.  | 0,49   | 84,58  |
| 1        | Desamparados      | 10               | L  | B                   | 6,908  | 0,056 | 0,001 | 2,34   | 69,17  |
| 1        | Desamparados      | 10               | L  | H                   | 36,440 | 0,608 | 0,064 | 556,44 | 96,50  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 1        | Desamparados      | 10               | L  | M                   | 71,176 | 0,008 | n.d.  | 0,60   | 27,37  |
| 1        | Desamparados      | 12               | L  | B                   | 2,869  | 0,215 | 0,007 | 1,96   | 67,23  |
| 1        | Desamparados      | 12               | L  | H                   | 12,153 | 0,085 | 0,031 | 288,29 | 86,49  |
| 1        | Desamparados      | 12               | L  | M                   | 42,459 | 0,019 | n.d.  | 0,33   | 22,01  |
| 1        | Desamparados      | 13               | L  | B                   | 7,036  | 0,211 | 0,006 | 1,52   | 76,06  |
| 1        | Desamparados      | 13               | L  | H                   | 35,494 | 0,106 | 0,056 | 441,03 | 82,28  |
| 1        | Desamparados      | 13               | L  | M                   | 45,770 | 0,011 | n.d.  | 0,43   | 34,95  |
| 1        | Desamparados      | 14               | L  | B                   | 4,675  | 0,065 | 0,006 | 1,92   | 84,59  |
| 1        | Desamparados      | 14               | L  | H                   | 10,596 | 0,033 | 0,018 | 124,36 | 40,79  |
| 1        | Desamparados      | 14               | L  | M                   | 27,139 | 0,055 | 0,001 | 0,48   | 34,72  |
| 1        | Desamparados      | 15               | L  | B                   | 4,891  | 0,170 | 0,007 | 1,72   | 83,85  |
| 1        | Desamparados      | 15               | L  | M                   | 44,015 | 0,015 | n.d.  | 0,39   | 46,22  |
| 1        | Desamparados      | 16               | L  | B                   | 5,311  | 0,145 | 0,003 | 2,22   | 83,62  |
| 1        | Desamparados      | 16               | L  | H                   | 21,242 | 0,085 | 0,030 | 300,99 | 85,80  |
| 1        | Desamparados      | 16               | L  | M                   | 48,579 | 0,029 | n.d.  | 0,53   | 27,97  |
| 1        | Desamparados      | 1                | L  | B                   | 3,377  | 0,724 | 0,006 | 1,96   | 77,29  |
| 1        | Desamparados      | 1                | L  | H                   | 14,512 | 0,165 | 0,048 | 476,15 | 86,28  |
| 1        | Desamparados      | 1                | L  | M                   | 34,968 | 0,045 | n.d.  | 0,56   | 33,53  |
| 1        | Desamparados      | 2                | L  | B                   | 5,029  | 0,570 | 0,005 | 1,71   | 80,58  |
| 1        | Desamparados      | 2                | L  | H                   | 19,166 | 0,079 | 0,076 | 471,04 | 120,24 |
| 1        | Desamparados      | 2                | L  | M                   | 41,845 | 0,143 | n.d.  | 0,53   | 27,60  |
| 1        | Desamparados      | 4                | L  | B                   | 4,346  | 0,519 | 0,004 | 2,51   | 78,21  |
| 1        | Desamparados      | 4                | L  | H                   | 19,082 | 0,080 | 0,048 | 315,99 | 94,73  |
| 1        | Desamparados      | 4                | L  | M                   | 58,372 | 0,050 | n.d.  | 1,59   | 38,33  |
| 1        | Desamparados      | 5                | L  | B                   | 3,743  | 0,166 | 0,005 | 2,60   | 83,30  |
| 1        | Desamparados      | 5                | L  | H                   | 31,794 | 0,004 | 0,059 | 456,55 | 114,95 |
| 1        | Desamparados      | 5                | L  | M                   | 60,467 | 0,014 | n.d.  | 0,72   | 23,88  |
| 1        | Desamparados      | 6                | L  | B                   | 3,525  | 2,121 | 0,007 | 1,85   | 69,69  |
| 1        | Desamparados      | 6                | L  | H                   | 20,040 | n.d.  | n.d.  | 514,54 | 95,42  |
| 1        | Desamparados      | 6                | L  | M                   | 23,999 | 0,073 | 0,001 | 0,66   | 44,00  |
| 1        | Desamparados      | 9                | L  | B                   | 3,435  | 1,029 | 0,010 | 3,16   | 79,59  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 1        | Desamparados      | 9                | L  | H                   | 11,115 | 0,012 | 0,032 | 201,79 | 73,54  |
| 1        | Desamparados      | 9                | L  | M                   | 31,996 | 0,012 | n.d.  | 0,61   | 33,65  |
| 1        | Puente Zuazo      | 1                | L  | H                   | 10,780 | 0,282 | 0,024 | 34,43  | 69,92  |
| 1        | Puente Zuazo      | 2                | L  | H                   | 10,866 | 0,213 | 0,036 | 129,43 | 45,50  |
| 1        | Puente Zuazo      | 3                | L  | H                   | 8,941  | 0,173 | 0,057 | 286,45 | 73,74  |
| 1        | Puente Zuazo      | 4                | L  | H                   | 7,159  | 0,926 | 0,024 | 26,90  | 61,03  |
| 2        | Odiel             | 1                | L  | B                   | 2,619  | 1,706 | 0,642 | 7,03   | 65,38  |
| 2        | Odiel             | 1                | L  | H                   | 6,286  | 1,396 | 1,959 | 753,59 | 121,59 |
| 2        | Odiel             | 1                | L  | M                   | 8,129  | 0,146 | 0,007 | 0,77   | 19,84  |
| 2        | Odiel             | 1                | L  | M                   | 10,067 | 0,191 | 0,021 | 0,91   | 24,24  |
| 2        | Odiel             | 2                | L  | B                   | 3,019  | 1,522 | 0,808 | 8,38   | 66,84  |
| 2        | Odiel             | 2                | L  | H                   | 8,754  | 1,011 | 3,315 | 920,97 | 109,10 |
| 2        | Odiel             | 2                | L  | M                   | 7,921  | 0,247 | 0,010 | 1,15   | 27,31  |
| 2        | Odiel             | 3                | L  | B                   | 3,470  | 2,587 | 1,270 | 14,02  | 74,46  |
| 2        | Odiel             | 3                | L  | H                   | 10,017 | 0,878 | 2,466 | n.d.   | n.d.   |
| 2        | Odiel             | 3                | L  | M                   | 9,594  | 0,217 | 0,010 | 1,33   | 24,18  |
| 2        | Odiel             | 4                | L  | B                   | 4,015  | 0,389 | 0,424 | 7,06   | 75,74  |
| 2        | Odiel             | 4                | L  | H                   | 6,849  | 2,455 | 0,782 | 843,84 | 127,80 |
| 2        | Odiel             | 4                | L  | M                   | 5,763  | 0,172 | 0,005 | 1,02   | 23,23  |
| 2        | Odiel             | 5                | L  | B                   | 4,399  | 2,795 | 0,520 | 9,83   | 64,48  |
| 2        | Odiel             | 5                | L  | H                   | 7,139  | 0,791 | 1,519 | 191,33 | 109,32 |
| 2        | Odiel             | 5                | L  | M                   | 9,247  | 0,222 | 0,005 | 0,82   | 27,60  |
| 2        | Odiel             | 6                | L  | B                   | 4,533  | 2,168 | 0,266 | 6,77   | 75,64  |
| 2        | Odiel             | 6                | L  | H                   | 5,777  | 0,824 | 3,220 | 483,94 | 114,25 |
| 2        | Odiel             | 6                | L  | M                   | 7,681  | 0,462 | 0,013 | 1,65   | 28,66  |
| 2        | Odiel             | 7                | L  | B                   | 3,909  | 2,361 | 0,359 | 6,66   | 68,33  |
| 2        | Odiel             | 7                | L  | H                   | 3,907  | 1,076 | 6,678 | 642,04 | 143,07 |
| 2        | Odiel             | 7                | L  | M                   | 7,534  | 0,282 | 0,014 | 1,53   | 25,28  |
| 2        | Odiel             | 8                | L  | B                   | 2,560  | 1,176 | 0,341 | 5,81   | 59,34  |
| 2        | Odiel             | 8                | L  | H                   | 4,501  | 1,588 | 2,347 | 494,57 | 104,82 |
| 2        | Odiel             | 8                | L  | M                   | 5,393  | 0,190 | 0,020 | 1,19   | 22,12  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 2        | Odiel             | 9                | L  | B                   | 4,825  | 2,894 | 0,719 | 10,31  | 68,84  |
| 2        | Odiel             | 9                | L  | H                   | 7,858  | 0,776 | 1,548 | 547,55 | 94,40  |
| 2        | Odiel             | 9                | L  | M                   | 9,019  | 0,144 | 0,021 | 1,05   | 16,88  |
| 2        | Tinto             | 1                | L  | B                   | 4,391  | 3,759 | 0,561 | 12,91  | 81,76  |
| 2        | Tinto             | 1                | L  | H                   | 2,000  | 0,717 | 0,725 | 134,55 | 74,67  |
| 2        | Tinto             | 1                | L  | M                   | 2,482  | 0,806 | 0,020 | 3,75   | 30,77  |
| 2        | Tinto             | 2                | L  | B                   | 3,081  | 2,119 | 0,378 | 6,44   | 87,75  |
| 2        | Tinto             | 2                | L  | H                   | 3,728  | 0,849 | 0,978 | 320,36 | 141,48 |
| 2        | Tinto             | 2                | L  | M                   | 2,169  | 0,561 | 0,015 | 2,70   | 25,80  |
| 2        | Tinto             | 3                | L  | B                   | 2,305  | 1,970 | 0,360 | 7,76   | 76,06  |
| 2        | Tinto             | 3                | L  | H                   | 2,123  | 0,530 | 0,942 | 282,16 | 90,46  |
| 2        | Tinto             | 3                | L  | M                   | 2,368  | 0,184 | 0,025 | 1,19   | 19,28  |
| 2        | Tinto             | 4                | L  | B                   | 4,070  | 4,445 | 1,144 | 16,50  | 82,02  |
| 2        | Tinto             | 4                | L  | H                   | 3,048  | 0,700 | 1,104 | 164,68 | 122,51 |
| 2        | Tinto             | 4                | L  | M                   | 4,496  | 0,478 | 0,007 | 2,69   | 17,06  |
| 2        | Tinto             | 5                | L  | B                   | 6,425  | 7,013 | 0,450 | 16,61  | 82,25  |
| 2        | Tinto             | 5                | L  | H                   | 3,372  | 0,522 | 0,436 | 157,91 | 103,34 |
| 2        | Tinto             | 5                | L  | M                   | 2,026  | 0,189 | 0,010 | 2,08   | 21,22  |
| 2        | Tinto             | 6                | L  | B                   | 6,237  | 7,531 | 0,618 | 44,18  | 81,59  |
| 2        | Tinto             | 6                | L  | H                   | 4,849  | 0,876 | 0,845 | 361,66 | 108,78 |
| 2        | Tinto             | 6                | L  | M                   | 10,530 | 0,501 | 0,012 | 1,88   | 22,31  |
| 2        | Desamparados      | 1                | D  | B                   | 4,247  | 0,195 | 0,003 | 1,58   | 82,34  |
| 2        | Desamparados      | 1                | D  | H                   | 5,189  | 0,028 | 0,031 | 20,26  | 106,29 |
| 2        | Desamparados      | 1                | D  | M                   | 11,675 | n.d.  | 0,058 | 0,73   | 33,67  |
| 2        | Desamparados      | 2                | D  | B                   | 5,869  | 0,463 | 0,003 | 2,13   | 85,32  |
| 2        | Desamparados      | 2                | D  | M                   | 12,226 | 0,017 | 0,001 | 0,66   | 17,57  |
| 2        | Desamparados      | 3                | D  | B                   | 4,541  | 0,407 | 0,003 | 2,14   | 91,10  |
| 2        | Desamparados      | 3                | D  | H                   | 5,205  | 0,185 | 0,100 | 18,40  | 105,85 |
| 2        | Desamparados      | 3                | D  | M                   | 9,566  | n.d.  | 0,030 | 0,42   | 22,68  |
| 2        | Desamparados      | 4                | D  | B                   | 5,534  | 0,302 | 0,002 | 2,13   | 87,10  |
| 2        | Desamparados      | 4                | D  | H                   | 5,006  | 0,036 | 0,033 | 7,67   | 97,19  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado



**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As      | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|---------|-------|-------|--------|--------|
| 2        | Desamparados      | 4                | D  | M                   | 13,831  | 0,017 | 0,017 | 0,75   | 24,71  |
| 2        | Desamparados      | 5                | D  | B                   | 6,630   | 0,362 | 0,011 | 2,16   | 86,70  |
| 2        | Desamparados      | 5                | D  | H                   | 6,300   | 0,073 | 0,041 | 12,65  | 110,35 |
| 2        | Desamparados      | 5                | D  | M                   | 20,294  | 0,003 | 0,021 | 0,78   | 15,67  |
| 2        | Desamparados      | 6                | D  | B                   | 6,033   | 0,732 | 0,004 | 2,71   | 111,41 |
| 2        | Desamparados      | 6                | D  | H                   | 4,969   | 0,047 | 0,041 | 7,79   | 97,14  |
| 2        | Desamparados      | 6                | D  | M                   | 5,892   | n.d.  | 0,053 | 0,94   | 22,14  |
| 2        | Desamparados      | 1                | L  | B                   | 2,902   | 0,941 | 0,033 | 3,88   | 96,11  |
| 2        | Desamparados      | 1                | L  | H                   | 3,426   | 0,068 | 0,016 | 26,59  | 43,31  |
| 2        | Desamparados      | 1                | L  | M                   | 25,057  | 0,020 | 0,019 | 0,63   | 32,67  |
| 2        | Desamparados      | 2                | L  | B                   | 1,998   | 0,354 | 0,004 | 2,70   | 77,83  |
| 2        | Desamparados      | 2                | L  | H                   | 9,901   | 0,445 | 0,034 | 242,82 | 69,73  |
| 2        | Desamparados      | 2                | L  | M                   | 29,818  | 0,054 | 0,010 | 0,76   | 58,69  |
| 2        | Desamparados      | 3                | L  | B                   | 3,293   | 0,665 | 0,006 | 3,47   | 96,25  |
| 2        | Desamparados      | 3                | L  | H                   | 8,253   | 0,221 | 0,034 | 266,04 | 55,56  |
| 2        | Desamparados      | 3                | L  | M                   | 17,325  | 0,045 | 0,022 | 2,93   | 62,24  |
| 2        | Desamparados      | 4                | L  | B                   | 4,652   | 0,455 | 0,027 | 3,94   | 99,38  |
| 2        | Desamparados      | 4                | L  | H                   | 6,743   | 0,224 | 0,031 | 232,45 | 91,23  |
| 2        | Desamparados      | 4                | L  | M                   | 17,706  | 0,064 | 0,001 | 1,20   | 70,41  |
| 2        | Desamparados      | 5                | L  | B                   | 4,273   | 0,336 | 0,102 | 3,88   | 95,01  |
| 2        | Desamparados      | 5                | L  | H                   | 18,258  | 0,099 | 0,039 | 133,76 | 60,76  |
| 2        | Desamparados      | 5                | L  | M                   | 110,811 | 0,015 | 0,022 | 0,94   | 32,66  |
| 2        | Desamparados      | 6                | L  | B                   | 2,711   | 0,352 | 0,005 | 4,26   | 80,03  |
| 2        | Desamparados      | 6                | L  | H                   | 11,470  | n.d.  | 0,018 | 224,05 | 44,60  |
| 2        | Desamparados      | 6                | L  | M                   | 22,232  | 0,010 | 0,012 | 1,18   | 40,59  |
| 2        | Puente Zuazo      | 1                | D  | B                   | 9,251   | 5,773 | 0,004 | 2,70   | 110,99 |
| 2        | Puente Zuazo      | 1                | D  | H                   | 11,477  | 1,716 | 0,265 | 32,42  | 124,60 |
| 2        | Puente Zuazo      | 1                | D  | M                   | 10,945  | 0,584 | 0,021 | 1,10   | 64,58  |
| 2        | Puente Zuazo      | 2                | D  | B                   | 6,333   | 1,641 | 0,004 | 1,85   | 73,48  |
| 2        | Puente Zuazo      | 2                | D  | H                   | 10,320  | 0,283 | 0,073 | 12,77  | 114,15 |
| 2        | Puente Zuazo      | 2                | D  | M                   | 12,450  | 0,118 | 0,023 | 0,58   | 47,40  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu    | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 2        | Puente Zuazo      | 1                | L  | B                   | 1,304  | 0,122 | 0,006 | 2,17  | 76,30  |
| 2        | Puente Zuazo      | 1                | L  | H                   | 3,600  | n.d.  | n.d.  | 3,67  | 37,77  |
| 2        | Puente Zuazo      | 1                | L  | M                   | 2,813  | 0,001 | 0,077 | 2,25  | 28,49  |
| 3        | Desamparados      | 10               | D  | B                   | 5,759  | 0,175 | 0,012 | 1,73  | 78,48  |
| 3        | Desamparados      | 10               | D  | H                   | 5,719  | 0,030 | 0,080 | 10,63 | 112,10 |
| 3        | Desamparados      | 11               | D  | B                   | 5,977  | 0,098 | 0,011 | 1,29  | 77,51  |
| 3        | Desamparados      | 11               | D  | H                   | 6,316  | 0,072 | 0,039 | 11,48 | 117,32 |
| 3        | Desamparados      | 11               | D  | M                   | 10,704 | 0,009 | n.d.  | 2,90  | 37,77  |
| 3        | Desamparados      | 12               | D  | B                   | 2,886  | 0,093 | 0,010 | 1,58  | 74,36  |
| 3        | Desamparados      | 12               | D  | H                   | 2,739  | 0,046 | 0,056 | 13,94 | 119,56 |
| 3        | Desamparados      | 12               | D  | M                   | 6,744  | 0,006 | 0,022 | 1,75  | 20,24  |
| 3        | Desamparados      | 1                | D  | B                   | 4,482  | 0,275 | 0,013 | 1,56  | 74,96  |
| 3        | Desamparados      | 1                | D  | H                   | 3,463  | 0,039 | 0,033 | 7,88  | 112,70 |
| 3        | Desamparados      | 1                | D  | M                   | 12,869 | 0,034 | 0,014 | 0,57  | 15,09  |
| 3        | Desamparados      | 2                | D  | B                   | 4,463  | 0,284 | 0,014 | 1,55  | 77,14  |
| 3        | Desamparados      | 2                | D  | H                   | 4,883  | 0,037 | 0,058 | 2,47  | 110,60 |
| 3        | Desamparados      | 2                | D  | M                   | 7,793  | n.d.  | 0,012 | 0,29  | 9,05   |
| 3        | Desamparados      | 3                | D  | B                   | 5,557  | 0,159 | 0,010 | 1,47  | 73,19  |
| 3        | Desamparados      | 3                | D  | H                   | 5,203  | 0,049 | 0,046 | 14,01 | 122,00 |
| 3        | Desamparados      | 3                | D  | M                   | 10,081 | 0,126 | 0,019 | 2,24  | 26,60  |
| 3        | Desamparados      | 4                | D  | B                   | 3,703  | 0,131 | 0,009 | 1,43  | 68,37  |
| 3        | Desamparados      | 4                | D  | H                   | 2,898  | 0,008 | 0,016 | 4,63  | 88,14  |
| 3        | Desamparados      | 4                | D  | M                   | 9,643  | 0,016 | 0,016 | 0,81  | 15,75  |
| 3        | Desamparados      | 5                | D  | B                   | 5,334  | 0,150 | 0,014 | 1,65  | 75,38  |
| 3        | Desamparados      | 5                | D  | H                   | 4,914  | 0,021 | 0,030 | 7,87  | 89,30  |
| 3        | Desamparados      | 5                | D  | M                   | 11,767 | 0,002 | 0,018 | 1,21  | 12,44  |
| 3        | Desamparados      | 6                | D  | B                   | 4,132  | 0,229 | 0,011 | 1,67  | 79,00  |
| 3        | Desamparados      | 6                | D  | H                   | 3,135  | 0,018 | 0,025 | 3,64  | 80,35  |
| 3        | Desamparados      | 6                | D  | M                   | 7,764  | 0,005 | n.d.  | 1,48  | 30,84  |
| 3        | Desamparados      | 7                | D  | B                   | 4,982  | 0,136 | 0,013 | 1,62  | 78,49  |
| 3        | Desamparados      | 7                | D  | H                   | 4,264  | 0,048 | 0,026 | 11,82 | 113,72 |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 3        | Desamparados      | 7                | D  | M                   | 14,193 | 0,015 | 0,012 | 0,90   | 31,08  |
| 3        | Desamparados      | 8                | D  | B                   | 3,479  | 0,130 | 0,003 | 1,77   | 76,46  |
| 3        | Desamparados      | 8                | D  | H                   | 3,190  | 0,035 | 0,035 | 10,07  | 103,72 |
| 3        | Desamparados      | 8                | D  | M                   | 7,533  | n.d.  | 0,012 | 2,97   | 31,28  |
| 3        | Desamparados      | 9                | D  | B                   | 3,350  | 0,130 | 0,011 | 1,85   | 79,39  |
| 3        | Desamparados      | 9                | D  | H                   | 3,275  | 0,038 | 0,034 | 3,50   | 80,20  |
| 3        | Desamparados      | 9                | D  | M                   | 8,792  | n.d.  | n.d.  | 1,95   | 18,68  |
| 3        | Desamparados      | 1                | L  | B                   | 2,147  | 0,257 | 0,004 | 3,01   | 83,06  |
| 3        | Desamparados      | 1                | L  | H                   | 7,652  | 0,014 | 0,009 | 30,11  | 59,12  |
| 3        | Desamparados      | 1                | L  | M                   | 5,244  | 0,011 | 0,019 | 1,04   | 30,26  |
| 3        | Desamparados      | 2                | L  | B                   | 2,024  | 0,910 | 0,049 | 2,76   | 89,06  |
| 3        | Desamparados      | 2                | L  | H                   | 3,990  | 0,020 | 0,016 | 79,58  | 54,12  |
| 3        | Desamparados      | 2                | L  | M                   | 5,203  | 0,060 | 0,013 | 0,75   | 20,51  |
| 3        | Desamparados      | 3                | L  | B                   | 1,914  | 0,104 | 0,003 | 2,55   | 70,90  |
| 3        | Desamparados      | 3                | L  | H                   | 8,914  | 0,019 | 0,021 | 76,99  | 51,31  |
| 3        | Desamparados      | 3                | L  | M                   | 13,265 | 0,046 | 0,013 | 0,49   | 19,06  |
| 3        | Desamparados      | 3                | L  | M                   | 12,645 | 0,044 | 0,001 | 0,37   | 16,32  |
| 3        | Desamparados      | 4                | L  | B                   | 2,213  | 0,068 | 0,020 | 2,57   | 87,97  |
| 3        | Desamparados      | 4                | L  | H                   | 13,417 | 0,006 | 0,009 | 60,91  | 58,41  |
| 3        | Desamparados      | 5                | L  | B                   | 1,863  | 0,072 | 0,019 | 2,00   | 80,78  |
| 3        | Desamparados      | 5                | L  | H                   | 10,750 | 0,017 | 0,015 | 140,24 | 52,68  |
| 3        | Desamparados      | 5                | L  | M                   | 15,021 | 0,043 | 0,018 | 0,78   | 64,28  |
| 3        | Desamparados      | 6                | L  | B                   | 1,675  | 0,124 | 0,003 | 1,97   | 80,71  |
| 3        | Desamparados      | 6                | L  | H                   | 4,434  | n.d.  | 0,013 | 8,87   | 25,72  |
| 3        | Desamparados      | 6                | L  | M                   | 12,575 | 0,036 | 0,017 | 0,50   | 25,10  |
| 3        | Odiel             | 1                | D  | B                   | 6,568  | 4,997 | 0,131 | 8,22   | 101,39 |
| 3        | Odiel             | 1                | D  | H                   | 6,450  | 1,865 | 2,009 | 69,81  | 223,77 |
| 3        | Odiel             | 1                | D  | M                   | 11,158 | 0,084 | 0,008 | 0,99   | 55,87  |
| 3        | Odiel             | 2                | D  | B                   | 3,878  | 2,620 | 0,071 | 2,95   | 73,33  |
| 3        | Odiel             | 2                | D  | H                   | 8,344  | 1,885 | 1,464 | 83,04  | 207,70 |
| 3        | Odiel             | 2                | D  | M                   | 10,163 | 0,145 | 0,008 | 1,00   | 49,10  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb     | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|--------|-------|--------|--------|
| 3        | Odiel             | 3                | D  | B                   | 4,374  | 2,316  | 0,050 | 3,27   | 68,02  |
| 3        | Odiel             | 3                | D  | H                   | 2,614  | 0,525  | 0,743 | 13,66  | 66,52  |
| 3        | Odiel             | 3                | D  | M                   | 18,817 | 0,092  | 0,008 | 0,95   | 45,74  |
| 3        | Odiel             | 4                | D  | B                   | 6,317  | 2,657  | 0,057 | 3,44   | 71,24  |
| 3        | Odiel             | 4                | D  | H                   | 9,183  | 2,902  | 2,198 | 137,06 | 311,87 |
| 3        | Odiel             | 4                | D  | M                   | 16,670 | 0,059  | 0,006 | 2,01   | 30,91  |
| 3        | Odiel             | 5                | D  | B                   | 4,123  | 3,421  | 0,062 | 4,74   | 72,11  |
| 3        | Odiel             | 5                | D  | H                   | 6,306  | 3,617  | 3,522 | 132,16 | 363,50 |
| 3        | Odiel             | 5                | D  | M                   | 14,402 | 2,549  | 0,014 | 1,28   | 61,72  |
| 3        | Odiel             | 6                | D  | B                   | 3,652  | 3,771  | 0,072 | 3,81   | 77,58  |
| 3        | Odiel             | 6                | D  | H                   | 6,786  | 0,279  | 0,007 | 0,92   | 26,86  |
| 3        | Odiel             | 6                | D  | M                   | 9,405  | 0,053  | 0,005 | 1,23   | 25,30  |
| 3        | Odiel             | 10               | L  | B                   | 3,850  | 5,012  | 0,606 | 9,00   | 77,90  |
| 3        | Odiel             | 10               | L  | H                   | 7,098  | 2,162  | 1,026 | 348,33 | 138,60 |
| 3        | Odiel             | 10               | L  | M                   | 8,649  | 0,359  | 0,006 | 0,80   | 33,41  |
| 3        | Odiel             | 11               | L  | B                   | 4,251  | 5,385  | 0,695 | 8,48   | 67,08  |
| 3        | Odiel             | 11               | L  | H                   | 8,152  | 1,230  | 1,738 | 441,97 | 92,43  |
| 3        | Odiel             | 11               | L  | M                   | 7,441  | 0,279  | 0,009 | 0,66   | 21,06  |
| 3        | Odiel             | 12               | L  | B                   | 2,901  | 10,405 | 0,403 | 3,68   | 74,95  |
| 3        | Odiel             | 12               | L  | H                   | 5,248  | 1,769  | 1,616 | 582,03 | 93,33  |
| 3        | Odiel             | 1                | L  | B                   | 2,856  | 4,893  | 0,271 | 8,26   | 71,80  |
| 3        | Odiel             | 1                | L  | H                   | 4,994  | 1,544  | 1,520 | 595,58 | 55,50  |
| 3        | Odiel             | 1                | L  | M                   | 7,024  | 0,272  | 0,005 | 1,16   | 23,14  |
| 3        | Odiel             | 2                | L  | B                   | 3,121  | 2,709  | 0,518 | 10,68  | 104,06 |
| 3        | Odiel             | 2                | L  | H                   | 5,113  | 0,881  | 1,345 | 386,69 | 57,28  |
| 3        | Odiel             | 2                | L  | M                   | 6,952  | 0,189  | 0,006 | 0,98   | 21,06  |
| 3        | Odiel             | 3                | L  | B                   | 3,769  | 4,426  | 0,320 | 8,60   | 110,47 |
| 3        | Odiel             | 3                | L  | H                   | 14,349 | 1,114  | 0,921 | 302,90 | 92,40  |
| 3        | Odiel             | 3                | L  | M                   | 10,321 | 0,213  | 0,006 | 1,00   | 29,85  |
| 3        | Odiel             | 4                | L  | B                   | 3,184  | 5,455  | 0,222 | 5,36   | 105,54 |
| 3        | Odiel             | 4                | L  | H                   | 9,005  | 1,821  | 0,994 | 61,10  | 73,78  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 3        | Odiel             | 4                | L  | M                   | 8,597  | 0,348 | 0,007 | 1,21   | 25,26  |
| 3        | Odiel             | 5                | L  | B                   | 3,897  | 3,685 | 0,637 | 7,45   | 93,04  |
| 3        | Odiel             | 5                | L  | H                   | 8,844  | 1,794 | 0,791 | 211,44 | 142,83 |
| 3        | Odiel             | 5                | L  | M                   | 8,601  | 0,422 | 0,008 | 0,55   | 27,07  |
| 3        | Odiel             | 6                | L  | B                   | 2,924  | 2,548 | 0,336 | 5,90   | 88,78  |
| 3        | Odiel             | 6                | L  | H                   | 10,673 | 1,443 | 1,223 | 414,64 | 101,96 |
| 3        | Odiel             | 6                | L  | M                   | 11,545 | 0,586 | 0,006 | 1,53   | 34,72  |
| 3        | Odiel             | 7                | L  | B                   | 3,319  | 3,229 | 0,662 | 6,05   | 111,95 |
| 3        | Odiel             | 7                | L  | H                   | 16,962 | 1,758 | 1,221 | 449,91 | 92,04  |
| 3        | Odiel             | 7                | L  | M                   | 5,362  | 1,577 | 0,009 | 0,74   | 31,37  |
| 3        | Odiel             | 8                | L  | B                   | 3,182  | 2,977 | 0,428 | 4,40   | 76,74  |
| 3        | Odiel             | 8                | L  | H                   | 7,636  | 2,152 | 1,286 | 538,30 | 109,12 |
| 3        | Odiel             | 8                | L  | M                   | 7,198  | 3,485 | 0,019 | 3,12   | 36,68  |
| 3        | Odiel             | 9                | L  | B                   | 3,182  | 3,456 | 0,407 | 5,99   | 90,87  |
| 3        | Odiel             | 9                | L  | H                   | 6,558  | 2,090 | 0,968 | 667,89 | 100,60 |
| 3        | Odiel             | 9                | L  | M                   | 5,955  | 0,157 | 0,005 | 0,86   | 22,33  |
| 3        | Tinto             | 1                | D  | B                   | 3,665  | 2,782 | 0,200 | 4,11   | 76,92  |
| 3        | Tinto             | 1                | D  | H                   | 4,385  | 2,233 | 2,340 | 195,47 | 265,46 |
| 3        | Tinto             | 1                | D  | M                   | 6,053  | 0,152 | 0,016 | 1,17   | 35,46  |
| 3        | Tinto             | 10               | L  | B                   | 4,395  | 4,930 | 1,191 | 13,17  | 73,69  |
| 3        | Tinto             | 10               | L  | H                   | 3,926  | 0,903 | 1,555 | 231,14 | 75,57  |
| 3        | Tinto             | 10               | L  | M                   | 4,351  | 0,185 | 0,017 | 0,62   | 22,19  |
| 3        | Tinto             | 11               | L  | B                   | 3,494  | 2,894 | 0,300 | 5,71   | 73,23  |
| 3        | Tinto             | 11               | L  | M                   | 7,020  | 0,344 | 0,012 | 1,02   | 24,01  |
| 3        | Tinto             | 12               | L  | B                   | 3,615  | 4,346 | 0,484 | 6,39   | 65,15  |
| 3        | Tinto             | 12               | L  | H                   | 8,878  | 6,243 | 1,947 | 333,84 | 87,31  |
| 3        | Tinto             | 12               | L  | M                   | 6,225  | 0,307 | 0,018 | 1,11   | 20,71  |
| 3        | Tinto             | 1                | L  | B                   | 4,658  | 6,235 | 0,749 | 12,12  | 64,16  |
| 3        | Tinto             | 1                | L  | H                   | 5,249  | 2,182 | 2,768 | 215,49 | 82,94  |
| 3        | Tinto             | 1                | L  | M                   | 18,411 | 0,751 | 0,024 | 1,93   | 68,69  |
| 3        | Tinto             | 2                | L  | B                   | 2,630  | 3,019 | 0,506 | 4,39   | 58,97  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As    | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 3        | Tinto             | 2                | L  | H                   | 4,852 | 1,422 | 2,505 | 323,71 | 83,61  |
| 3        | Tinto             | 2                | L  | M                   | 3,291 | 0,207 | 0,005 | 0,46   | 18,61  |
| 3        | Tinto             | 3                | L  | B                   | 4,144 | 4,793 | 0,845 | 7,98   | 67,49  |
| 3        | Tinto             | 3                | L  | H                   | 4,354 | 0,980 | 0,881 | 242,89 | 80,09  |
| 3        | Tinto             | 3                | L  | M                   | 3,494 | 0,226 | 0,006 | 0,59   | 19,09  |
| 3        | Tinto             | 4                | L  | B                   | 3,654 | 4,143 | 0,517 | 6,88   | 69,78  |
| 3        | Tinto             | 4                | L  | H                   | 2,646 | 1,305 | 1,699 | 325,61 | 43,67  |
| 3        | Tinto             | 4                | L  | M                   | 5,545 | 0,329 | 0,009 | 1,10   | 28,30  |
| 3        | Tinto             | 5                | L  | B                   | 3,100 | 3,275 | 0,740 | 9,70   | 68,14  |
| 3        | Tinto             | 5                | L  | H                   | 5,107 | 1,799 | 1,959 | 517,49 | 77,55  |
| 3        | Tinto             | 6                | L  | B                   | 4,339 | 5,845 | 1,193 | 11,18  | 69,49  |
| 3        | Tinto             | 6                | L  | H                   | 4,321 | 1,687 | 2,322 | 896,99 | 79,67  |
| 3        | Tinto             | 6                | L  | M                   | 7,643 | 0,565 | 0,007 | 1,25   | 29,64  |
| 3        | Tinto             | 7                | L  | B                   | 4,718 | 5,858 | 0,987 | 11,62  | 66,27  |
| 3        | Tinto             | 7                | L  | H                   | n.d.  | 0,184 | n.d.  | 0,35   | 0,24   |
| 3        | Tinto             | 7                | L  | M                   | 8,659 | 0,343 | 0,012 | 0,95   | 28,86  |
| 3        | Tinto             | 8                | L  | B                   | 3,613 | 2,968 | 0,941 | 7,69   | 72,80  |
| 3        | Tinto             | 8                | L  | H                   | 6,688 | 1,200 | 3,244 | 636,19 | 102,19 |
| 3        | Tinto             | 8                | L  | M                   | 6,459 | 0,192 | 0,007 | 0,98   | 28,69  |
| 3        | Tinto             | 9                | L  | B                   | 4,015 | 6,038 | 1,419 | 11,16  | 59,38  |
| 3        | Tinto             | 9                | L  | H                   | 6,702 | 1,481 | 1,467 | 526,36 | 121,41 |
| 3        | Tinto             | 9                | L  | M                   | 5,143 | 0,286 | 0,006 | 0,74   | 28,15  |
| 3        | Padre Santo       | 1                | D  | B                   | 3,829 | 5,343 | 0,086 | 13,85  | 84,86  |
| 3        | Padre Santo       | 1                | D  | H                   | 3,757 | 2,192 | 2,196 | 951,90 | 287,56 |
| 3        | Padre Santo       | 1                | D  | M                   | 4,984 | 0,214 | 0,002 | 1,89   | 46,72  |
| 3        | Padre Santo       | 10               | L  | B                   | 3,009 | 3,947 | 0,251 | 5,55   | 66,66  |
| 3        | Padre Santo       | 10               | L  | H                   | 6,447 | 2,341 | 1,102 | 213,41 | 87,37  |
| 3        | Padre Santo       | 10               | L  | M                   | 6,914 | 0,084 | 0,019 | 0,78   | 15,72  |
| 3        | Padre Santo       | 11               | L  | B                   | 2,911 | 3,842 | 0,607 | 8,73   | 80,94  |
| 3        | Padre Santo       | 11               | L  | H                   | 5,295 | 1,612 | 2,399 | 367,42 | 72,49  |
| 3        | Padre Santo       | 11               | L  | M                   | 5,847 | 0,160 | 0,014 | 1,09   | 24,36  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb    | Cd    | Cu      | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|-------|-------|---------|--------|
| 3        | Padre Santo       | 12               | L  | B                   | 3,576  | 3,103 | 0,586 | 8,32    | 73,98  |
| 3        | Padre Santo       | 12               | L  | H                   | 5,028  | 1,612 | 1,792 | 441,38  | 58,38  |
| 3        | Padre Santo       | 12               | L  | M                   | 6,073  | 0,163 | 0,018 | 1,00    | 24,42  |
| 3        | Padre Santo       | 1                | L  | B                   | 2,219  | 1,794 | 1,212 | 8,96    | 60,16  |
| 3        | Padre Santo       | 1                | L  | H                   | 4,131  | 1,702 | 1,984 | 589,85  | 83,68  |
| 3        | Padre Santo       | 1                | L  | M                   | 3,494  | 0,156 | 0,002 | 0,57    | 16,09  |
| 3        | Padre Santo       | 2                | L  | B                   | 3,073  | 2,506 | 0,211 | 3,93    | 62,36  |
| 3        | Padre Santo       | 2                | L  | H                   | 5,796  | 1,520 | 1,765 | 400,50  | 102,57 |
| 3        | Padre Santo       | 2                | L  | M                   | 8,752  | 0,192 | 0,001 | 0,64    | 28,85  |
| 3        | Padre Santo       | 3                | L  | B                   | 4,114  | 2,686 | 0,216 | 7,45    | 61,88  |
| 3        | Padre Santo       | 3                | L  | H                   | 10,818 | 1,110 | 2,461 | 364,78  | 86,61  |
| 3        | Padre Santo       | 3                | L  | M                   | 8,617  | 0,185 | 0,017 | 0,81    | 29,80  |
| 3        | Padre Santo       | 4                | L  | B                   | 3,017  | 5,932 | 0,552 | 6,77    | 66,94  |
| 3        | Padre Santo       | 4                | L  | H                   | 6,555  | 0,801 | 1,265 | 721,97  | 47,60  |
| 3        | Padre Santo       | 4                | L  | M                   | 10,360 | 0,169 | 0,017 | 0,66    | 21,93  |
| 3        | Padre Santo       | 5                | L  | B                   | 2,407  | 1,458 | 0,192 | 4,36    | 63,46  |
| 3        | Padre Santo       | 5                | L  | H                   | 6,413  | 2,007 | 1,101 | 352,22  | 100,94 |
| 3        | Padre Santo       | 5                | L  | M                   | 6,333  | 0,185 | 0,001 | 0,60    | 22,44  |
| 3        | Padre Santo       | 6                | L  | B                   | 4,131  | 3,959 | 0,766 | 8,10    | 79,18  |
| 3        | Padre Santo       | 6                | L  | H                   | 5,465  | 0,736 | 1,871 | 848,24  | 85,32  |
| 3        | Padre Santo       | 6                | L  | M                   | 5,937  | 0,082 | 0,025 | 0,67    | 21,09  |
| 3        | Padre Santo       | 7                | L  | B                   | 2,283  | 1,954 | 0,837 | 5,87    | 63,62  |
| 3        | Padre Santo       | 7                | L  | H                   | 3,932  | 1,018 | 1,730 | 508,79  | 73,88  |
| 3        | Padre Santo       | 7                | L  | M                   | 5,332  | 0,161 | 0,014 | 0,75    | 22,69  |
| 3        | Padre Santo       | 8                | L  | B                   | 3,413  | 2,480 | 0,293 | 5,16    | 59,77  |
| 3        | Padre Santo       | 8                | L  | H                   | 6,983  | 1,547 | 0,844 | 595,98  | 110,49 |
| 3        | Padre Santo       | 8                | L  | M                   | 8,240  | 0,109 | 0,017 | 1,07    | 19,60  |
| 3        | Padre Santo       | 9                | L  | B                   | 2,408  | 1,934 | 0,285 | 3,97    | 63,42  |
| 3        | Padre Santo       | 9                | L  | H                   | 8,078  | 0,862 | 2,790 | 1147,90 | 67,51  |
| 3        | Padre Santo       | 9                | L  | M                   | 10,963 | 0,365 | 0,003 | 0,71    | 43,81  |
| 4        | Odiel             | 1                | D  | B                   | 17,612 | 3,464 | 0,100 | 7,42    | 183,82 |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As      | Pb    | Cd     | Cu      | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|---------|-------|--------|---------|--------|
| 4        | Odiel             | 1                | D  | H                   | 14,983  | 1,985 | 16,972 | 1387,82 | 272,32 |
| 4        | Odiel             | 1                | D  | M                   | 32,452  | 0,222 | 0,020  | 2,84    | 51,46  |
| 4        | Odiel             | 2                | D  | B                   | 19,154  | 4,208 | 0,139  | 15,20   | 190,51 |
| 4        | Odiel             | 2                | D  | H                   | 13,508  | 1,937 | 22,015 | 1473,16 | 312,21 |
| 4        | Odiel             | 10               | L  | B                   | 4,072   | 2,457 | 0,518  | 12,09   | 79,91  |
| 4        | Odiel             | 10               | L  | H                   | 4,799   | 0,931 | 1,744  | 621,03  | 74,76  |
| 4        | Odiel             | 10               | L  | M                   | 8,054   | 0,660 | 0,014  | 3,48    | 22,12  |
| 4        | Odiel             | 1                | L  | B                   | 20,645  | 3,653 | 0,458  | 15,23   | 69,32  |
| 4        | Odiel             | 1                | L  | H                   | 11,577  | 1,605 | 3,531  | 711,12  | 78,72  |
| 4        | Odiel             | 1                | L  | M                   | 18,420  | 0,189 | 0,004  | 1,18    | 13,23  |
| 4        | Odiel             | 2                | L  | B                   | 107,805 | 2,268 | 0,426  | 7,60    | 56,41  |
| 4        | Odiel             | 2                | L  | H                   | 36,788  | 1,374 | 3,931  | 969,85  | 83,19  |
| 4        | Odiel             | 2                | L  | M                   | 30,945  | 0,174 | 0,004  | 0,70    | 22,83  |
| 4        | Odiel             | 3                | L  | B                   | 7,231   | 2,083 | 0,466  | 11,11   | 58,29  |
| 4        | Odiel             | 3                | L  | H                   | 8,633   | 1,134 | 2,981  | 618,22  | 68,39  |
| 4        | Odiel             | 3                | L  | M                   | 25,704  | 0,219 | 0,009  | 1,35    | 20,25  |
| 4        | Odiel             | 4                | L  | B                   | 8,349   | 3,929 | 0,365  | 8,55    | 64,36  |
| 4        | Odiel             | 4                | L  | H                   | 11,565  | 1,838 | 2,886  | 218,36  | 66,92  |
| 4        | Odiel             | 4                | L  | M                   | 18,001  | 0,147 | 0,002  | 0,48    | 11,33  |
| 4        | Odiel             | 5                | L  | B                   | 7,355   | 3,030 | 0,408  | 10,56   | 56,63  |
| 4        | Odiel             | 5                | L  | H                   | 11,440  | 0,994 | 1,721  | 375,77  | 64,24  |
| 4        | Odiel             | 5                | L  | M                   | 15,326  | 0,164 | n.d.   | 1,22    | 12,61  |
| 4        | Odiel             | 6                | L  | B                   | 6,367   | 5,339 | 0,279  | 8,01    | 65,01  |
| 4        | Odiel             | 6                | L  | H                   | 20,014  | 1,480 | 2,805  | 638,32  | 80,79  |
| 4        | Odiel             | 6                | L  | M                   | 23,988  | 0,313 | 0,009  | 1,87    | 22,48  |
| 4        | Odiel             | 7                | L  | B                   | 12,020  | 1,798 | 0,321  | 8,40    | 62,42  |
| 4        | Odiel             | 7                | L  | H                   | 10,831  | 1,870 | 3,279  | 600,38  | 82,13  |
| 4        | Odiel             | 7                | L  | M                   | 18,055  | 0,395 | 0,008  | 2,45    | 14,22  |
| 4        | Odiel             | 8                | L  | B                   | 5,664   | 3,516 | 0,466  | 11,48   | 69,84  |
| 4        | Odiel             | 8                | L  | H                   | 16,555  | 2,586 | 1,166  | 519,76  | 79,36  |
| 4        | Odiel             | 8                | L  | M                   | 17,348  | 0,331 | 0,006  | 1,70    | 21,80  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado



**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As      | Pb     | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|---------|--------|-------|--------|--------|
| 4        | Odiel             | 9                | L  | B                   | 4,456   | 2,328  | 0,536 | 9,04   | 59,17  |
| 4        | Odiel             | 9                | L  | H                   | 10,556  | 1,334  | 2,832 | 488,25 | 26,36  |
| 4        | Odiel             | 9                | L  | M                   | 28,673  | 0,735  | 0,007 | 3,76   | 19,08  |
| 4        | Tinto             | 10               | L  | B                   | 27,837  | 26,824 | 0,759 | 111,98 | 161,22 |
| 4        | Tinto             | 10               | L  | H                   | 9,578   | 1,473  | 1,002 | 344,26 | 75,43  |
| 4        | Tinto             | 10               | L  | M                   | 6,448   | 0,796  | 0,016 | 3,33   | 25,63  |
| 4        | Tinto             | 11               | L  | B                   | 15,025  | 3,825  | 0,469 | 9,39   | 70,37  |
| 4        | Tinto             | 11               | L  | H                   | 5,552   | 0,858  | 1,285 | 298,46 | 98,33  |
| 4        | Tinto             | 11               | L  | M                   | 6,189   | 0,821  | 0,013 | 1,87   | 23,09  |
| 4        | Tinto             | 12               | L  | B                   | 14,410  | 9,165  | 0,635 | 18,71  | 72,76  |
| 4        | Tinto             | 12               | L  | H                   | 4,962   | 0,673  | 1,032 | 129,44 | 68,00  |
| 4        | Tinto             | 12               | L  | M                   | 5,937   | 0,261  | 0,006 | 1,13   | 18,52  |
| 4        | Tinto             | 1                | L  | B                   | 25,425  | 5,328  | 0,329 | 11,93  | 78,19  |
| 4        | Tinto             | 1                | L  | H                   | 13,211  | 1,204  | 2,051 | 241,81 | 71,54  |
| 4        | Tinto             | 1                | L  | M                   | 14,606  | 0,389  | 0,009 | 1,63   | 18,99  |
| 4        | Tinto             | 2                | L  | B                   | 37,444  | 20,467 | 0,568 | 84,72  | 129,86 |
| 4        | Tinto             | 2                | L  | H                   | 6,282   | 1,273  | 0,833 | 214,88 | 91,61  |
| 4        | Tinto             | 2                | L  | M                   | 11,063  | 0,645  | 0,009 | 3,08   | 23,98  |
| 4        | Tinto             | 3                | L  | B                   | 65,623  | 5,065  | 0,514 | 11,51  | 69,33  |
| 4        | Tinto             | 3                | L  | H                   | 20,975  | 2,694  | 2,246 | 542,75 | 25,86  |
| 4        | Tinto             | 3                | L  | M                   | 61,036  | 0,522  | 0,006 | 3,68   | 20,15  |
| 4        | Tinto             | 4                | L  | B                   | 12,741  | 7,232  | 1,314 | 26,22  | 77,32  |
| 4        | Tinto             | 4                | L  | M                   | 10,795  | 0,553  | 0,012 | 2,60   | 23,41  |
| 4        | Tinto             | 5                | L  | B                   | 145,877 | 6,479  | 0,518 | 17,30  | 61,32  |
| 4        | Tinto             | 5                | L  | H                   | 507,918 | 3,117  | 2,999 | 639,31 | 101,91 |
| 4        | Tinto             | 5                | L  | M                   | 19,181  | 2,131  | 0,011 | 2,89   | 24,42  |
| 4        | Tinto             | 6                | L  | B                   | 290,309 | 6,074  | 0,277 | 11,97  | 68,86  |
| 4        | Tinto             | 6                | L  | H                   | 9,935   | 1,094  | 1,519 | 221,70 | 74,86  |
| 4        | Tinto             | 6                | L  | M                   | 26,103  | 0,519  | 0,005 | 1,70   | 16,91  |
| 4        | Tinto             | 7                | L  | B                   | 18,960  | 4,944  | 0,575 | 16,14  | 66,62  |
| 4        | Tinto             | 7                | L  | H                   | 13,765  | 1,059  | 1,773 | 219,63 | 89,97  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As     | Pb     | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|--------|--------|-------|--------|--------|
| 4        | Tinto             | 7                | L  | M                   | 26,251 | 0,449  | 0,006 | 1,71   | 21,00  |
| 4        | Tinto             | 8                | L  | B                   | 22,014 | 7,062  | 0,283 | 9,99   | 58,17  |
| 4        | Tinto             | 8                | L  | H                   | 12,951 | 1,537  | 5,120 | 642,17 | 71,75  |
| 4        | Tinto             | 8                | L  | M                   | 15,853 | 0,474  | 0,005 | 1,52   | 15,25  |
| 4        | Tinto             | 9                | L  | B                   | 13,367 | 10,390 | 0,652 | 21,21  | 65,05  |
| 4        | Tinto             | 9                | L  | M                   | 21,374 | 0,584  | n.d.  | 3,41   | 18,04  |
| 4        | Padre Santo       | 1                | D  | B                   | 65,623 | 5,693  | 0,057 | 41,92  | 101,08 |
| 4        | Padre Santo       | 1                | D  | M                   | 16,729 | 0,187  | 0,001 | 4,29   | 68,49  |
| 4        | Padre Santo       | 2                | D  | B                   | 7,705  | 3,855  | 0,050 | 23,78  | 90,28  |
| 4        | Padre Santo       | 2                | D  | H                   | 6,590  | 0,303  | 0,521 | 309,41 | 180,16 |
| 4        | Padre Santo       | 2                | D  | M                   | 18,468 | 0,267  | 0,006 | 2,81   | 58,13  |
| 4        | Puente Zuazo      | 1                | L  | B                   | 39,537 | 0,065  | 0,111 | 692,39 | 77,86  |
| 4        | Puente Zuazo      | 1                | L  | H                   | 4,926  | 0,162  | 0,160 | 6,39   | 44,47  |
| 4        | Puente Zuazo      | 1                | L  | M                   | 37,948 | 0,161  | n.d.  | 1,57   | 25,36  |
| 4        | Puente Zuazo      | 2                | L  | B                   | 5,038  | 0,122  | 0,024 | 1,62   | 76,46  |
| 4        | Puente Zuazo      | 2                | L  | H                   | 6,171  | 0,136  | 0,009 | 295,32 | 123,91 |
| 4        | Puente Zuazo      | 2                | L  | M                   | 42,838 | 0,264  | n.d.  | 0,93   | 22,65  |
| 4        | Puente Zuazo      | 3                | L  | B                   | 64,262 | 0,025  | n.d.  | 3,15   | 62,02  |
| 4        | Puente Zuazo      | 3                | L  | H                   | 9,266  | 0,446  | 0,024 | 272,33 | 94,99  |
| 4        | Puente Zuazo      | 3                | L  | M                   | 19,225 | 0,170  | 0,579 | 0,63   | 23,45  |
| 4        | Puente Zuazo      | 4                | L  | B                   | 23,869 | 0,024  | n.d.  | 2,87   | 70,04  |
| 4        | Puente Zuazo      | 4                | L  | H                   | 63,219 | 0,470  | 0,022 | 7,59   | 70,36  |
| 4        | Puente Zuazo      | 4                | L  | M                   | 8,030  | 0,061  | 0,191 | 0,43   | 25,42  |
| 4        | Puente Zuazo      | 5                | L  | B                   | 8,587  | n.d.   | n.d.  | 2,15   | 67,68  |
| 4        | Puente Zuazo      | 5                | L  | M                   | 98,154 | 0,120  | 0,018 | 1,30   | 23,77  |
| 4        | Puente Zuazo      | 6                | L  | H                   | 11,445 | 0,002  | n.d.  | 28,92  | 76,29  |
| 4        | Puente Zuazo      | 6                | L  | M                   | 5,588  | 0,005  | n.d.  | 0,54   | 25,11  |
| 4        | Puente Zuazo      | 7                | L  | B                   | 12,062 | 0,081  | 0,150 | 4,06   | 84,33  |
| 4        | Puente Zuazo      | 7                | L  | H                   | 11,959 | 0,003  | n.d.  | 332,18 | 135,58 |
| 4        | Puente Zuazo      | 7                | L  | M                   | 18,370 | 0,287  | 0,021 | 0,45   | 31,28  |
| 4        | Puente Zuazo      | 8                | L  | B                   | 58,291 | 0,150  | 0,204 | 2,16   | 67,36  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As      | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|---------|-------|-------|--------|--------|
| 4        | Puente Zuazo      | 8                | L  | H                   | 56,035  | 0,002 | n.d.  | 12,07  | 82,69  |
| 4        | Puente Zuazo      | 8                | L  | M                   | 4,972   | 0,101 | 0,568 | 0,68   | 22,90  |
| 4        | Puente Zuazo      | 9                | L  | B                   | 131,156 | 0,560 | 0,019 | 2,46   | 68,97  |
| 4        | Puente Zuazo      | 9                | L  | H                   | 48,131  | 0,052 | 0,229 | 12,52  | 76,03  |
| 4        | Puente Zuazo      | 10               | L  | B                   | 85,020  | 0,338 | 0,011 | 2,07   | 59,02  |
| 4        | Puente Zuazo      | 10               | L  | H                   | 24,166  | 0,216 | 0,278 | 153,24 | 104,02 |
| 4        | Puente Zuazo      | 10               | L  | M                   | 95,291  | n.d.  | n.d.  | 0,69   | 21,21  |
| 4        | Puente Zuazo      | 11               | L  | B                   | 263,850 | 0,343 | 0,011 | 2,45   | 64,42  |
| 4        | Puente Zuazo      | 11               | L  | H                   | 44,152  | 0,174 | 0,821 | 27,41  | 107,25 |
| 4        | Puente Zuazo      | 11               | L  | M                   | 23,555  | 0,017 | n.d.  | 0,55   | 30,44  |
| 4        | Puente Zuazo      | 12               | L  | B                   | 31,476  | 0,332 | 0,015 | 3,08   | 61,09  |
| 4        | Puente Zuazo      | 12               | L  | H                   | 5,219   | 0,025 | 0,430 | 19,55  | 84,59  |
| 4        | Puente Zuazo      | 12               | L  | M                   | 10,051  | 0,021 | n.d.  | 0,49   | 25,15  |
| 4        | Puente Zuazo      | 1                | D  | B                   | 38,895  | 0,001 | n.d.  | 2,27   | 72,27  |
| 4        | Puente Zuazo      | 1                | D  | H                   | 11,060  | 0,178 | 0,314 | 23,70  | 156,27 |
| 4        | Puente Zuazo      | 1                | D  | M                   | 28,497  | 0,011 | n.d.  | 0,62   | 37,63  |
| 4        | Puente Zuazo      | 2                | D  | B                   | 11,479  | 0,363 | 0,004 | 1,57   | 74,25  |
| 4        | Puente Zuazo      | 2                | D  | M                   | 35,932  | 0,014 | n.d.  | 0,62   | 39,96  |
| 4        | Desamparados      | 1                | D  | B                   | 148,653 | 0,876 | 0,003 | 1,84   | 85,70  |
| 4        | Desamparados      | 1                | D  | H                   | 41,008  | 0,091 | 0,367 | 89,64  | 162,09 |
| 4        | Desamparados      | 1                | D  | M                   | 5,273   | 0,338 | 0,291 | 0,78   | 39,05  |
| 4        | Desamparados      | 2                | D  | M                   | 21,991  | 0,592 | 0,005 | 0,69   | 68,22  |
| 4        | Desamparados      | 2                | D  | H                   | 27,025  | 0,139 | 0,286 | 49,13  | 147,87 |
| 4        | Desamparados      | 2                | D  | B                   | 42,867  | 0,097 | 0,003 | 2,43   | 73,90  |
| 4        | Desamparados      | 3                | D  | B                   | 23,114  | 1,379 | 0,004 | 1,91   | 67,91  |
| 4        | Desamparados      | 3                | D  | H                   | 18,086  | 0,227 | 0,442 | 33,25  | 135,96 |
| 4        | Desamparados      | 3                | D  | M                   | 50,795  | 0,112 | n.d.  | 0,85   | 58,33  |
| 4        | Desamparados      | 4                | D  | B                   | 40,041  | 1,807 | 0,005 | 2,10   | 80,65  |
| 4        | Desamparados      | 4                | D  | H                   | 12,717  | 0,203 | 0,371 | 126,04 | 216,88 |
| 4        | Desamparados      | 4                | D  | M                   | 87,371  | 0,263 | 0,001 | 0,72   | 25,61  |
| 4        | Desamparados      | 5                | D  | B                   | 48,177  | 0,801 | 0,003 | 1,61   | 61,94  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

**TABLA A.17 (cont.).** Datos de concentración de As, Pb, Cd, Cu y Zn en peces (mg / Kg).

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | PEZ <sup>1</sup> | Nº | TEJIDO <sup>2</sup> | As      | Pb    | Cd    | Cu     | Zn     |
|----------|-------------------|------------------|----|---------------------|---------|-------|-------|--------|--------|
| 4        | Desamparados      | 5                | D  | H                   | 77,165  | 0,290 | 0,264 | 90,25  | 194,36 |
| 4        | Desamparados      | 5                | D  | M                   | 56,788  | 0,159 | 0,028 | 2,56   | 58,75  |
| 4        | Desamparados      | 6                | D  | B                   | 15,915  | 0,787 | 0,003 | 1,84   | 60,65  |
| 4        | Desamparados      | 6                | D  | H                   | 17,169  | 0,208 | 0,252 | 56,14  | 176,28 |
| 4        | Desamparados      | 6                | D  | M                   | 53,768  | 0,093 | 0,001 | 1,33   | 48,29  |
| 4        | Desamparados      | 7                | D  | B                   | 9,466   | 2,830 | 0,004 | 2,28   | 71,40  |
| 4        | Desamparados      | 7                | D  | H                   | 14,108  | 0,203 | 0,256 | 92,57  | 204,51 |
| 4        | Desamparados      | 7                | D  | M                   | 35,610  | 0,203 | n.d.  | 0,93   | 48,40  |
| 4        | Desamparados      | 8                | D  | B                   | 9,815   | 2,582 | 0,006 | 3,35   | 89,56  |
| 4        | Desamparados      | 8                | D  | H                   | 13,094  | 0,235 | 0,231 | 92,30  | 193,75 |
| 4        | Desamparados      | 8                | D  | M                   | 26,105  | 0,078 | n.d.  | 0,88   | 39,69  |
| 4        | Desamparados      | 9                | D  | B                   | 10,491  | 4,417 | 0,010 | 2,62   | 71,04  |
| 4        | Desamparados      | 9                | D  | M                   | 32,980  | 0,194 | 0,001 | 0,70   | 70,93  |
| 4        | Desamparados      | 1                | L  | B                   | 105,277 | 1,965 | 0,076 | 86,14  | 83,10  |
| 4        | Desamparados      | 1                | L  | H                   | 158,843 | 0,048 | 5,542 | 489,40 | 265,80 |
| 4        | Desamparados      | 1                | L  | M                   | 65,579  | 0,075 | 0,042 | 0,80   | 36,89  |
| 4        | Desamparados      | 2                | L  | B                   | 29,080  | 0,044 | 0,003 | 0,21   | 5,97   |
| 4        | Desamparados      | 2                | L  | H                   | 58,891  | 0,083 | 2,329 | 263,74 | 116,43 |
| 4        | Desamparados      | 2                | L  | M                   | 58,154  | 0,036 | 0,009 | 1,09   | 32,21  |

<sup>1</sup> D=Dorada, L=lenguado<sup>2</sup> B=Branquia, M=Músculo, H=Higado

### A.3.4. DATOS BIOLÓGICOS DE LOS PECES

**TABLA A.18.** Datos de longitud y peso de los peces analizados.

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | ESPECIE  | PEZ | PESO g | LONGITUD cm |
|----------|-------------------|----------|-----|--------|-------------|
| 1        | Odiel             | Dorada   | 1   | 91,5   | 18          |
| 1        | Odiel             | Dorada   | 2   | 422,5  | 29,5        |
| 1        | Odiel             | Lenguado | 16  | 117    | 23          |
| 1        | Odiel             | Lenguado | 17  | 100,5  | 21          |
| 1        | Odiel             | Lenguado | 18  | 105    | 22,5        |
| 1        | Odiel             | Lenguado | 22  | 96     | 22          |
| 1        | Odiel             | Lenguado | 23  | 94,5   | 21          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 10  | 304,94 | 29          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 11  | 381    | 28          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 12  | 172,13 | 21          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 13  | 150,11 | 19,3        |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 15  | 255,3  | 24          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 1   | 352    | 29,5        |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 2   | 409    | 31,5        |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 3   | 326    | 28,5        |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 4   | 342    | 29          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 6   | 313    | 27          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 7   | 158,18 | 19          |
| 1        | Desamparados      | Dorada   | 9   | 314,13 | 24          |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 10  | 156,14 | 26,5        |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 12  | 176,74 | 29          |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 13  | 165,35 | 26,5        |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 14  | 173,2  | 27          |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 15  | 160,82 | 27          |

**TABLA A.18 (cont.).** Datos de longitud y peso de los peces analizados.

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | ESPECIE  | PEZ | PESO g | LONGITUD cm |
|----------|-------------------|----------|-----|--------|-------------|
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 16  | 174,32 | 28          |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 1   | 180    | 27,5        |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 2   | 184,8  | 28,5        |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 4   | 177,71 | 28          |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 5   | 152,67 | 26          |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 6   | 177,88 | 28          |
| 1        | Desamparados      | Lenguado | 9   | 176,5  | 26,5        |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 1   | 124,38 | 24,5        |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 2   | 63,56  | 20,5        |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 3   | 91,21  | 22          |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 4   | 85,81  | 21,5        |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 5   | 70,21  | 20          |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 6   | 87,27  | 21,5        |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 7   | 80,87  | 23          |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 8   | 94,96  | 21,5        |
| 2        | Odiel             | Lenguado | 9   | 85,65  | 21,5        |
| 2        | Tinto             | Lenguado | 1   | 137    | 23          |
| 2        | Tinto             | Lenguado | 2   | 134    | 24          |
| 2        | Tinto             | Lenguado | 3   | 159    | 26          |
| 2        | Tinto             | Lenguado | 4   | 146    | 24,5        |
| 2        | Tinto             | Lenguado | 5   | 81     | 20,5        |
| 2        | Tinto             | Lenguado | 6   | 80     | 20          |
| 2        | Desamparados      | Dorada   | 1   | 200,6  | 24          |
| 2        | Desamparados      | Dorada   | 2   | 218,85 | 23          |
| 2        | Desamparados      | Dorada   | 3   | 201,31 | 22          |

**TABLA A.18 (cont.).** Datos de longitud y peso de los peces analizados.

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | ESPECIE  | PEZ | PESO g | LONGITUD cm |
|----------|-------------------|----------|-----|--------|-------------|
| 2        | Desamparados      | Dorada   | 4   | 174,85 | 20          |
| 2        | Desamparados      | Dorada   | 5   | 200,23 | 21          |
| 2        | Desamparados      | Dorada   | 6   | 175,65 | 21          |
| 2        | Desamparados      | Lenguado | 1   | 111,51 | 26          |
| 2        | Desamparados      | Lenguado | 2   | 157,96 | 27          |
| 2        | Desamparados      | Lenguado | 3   | 132,88 | 24,5        |
| 2        | Desamparados      | Lenguado | 4   | 130,07 | 24,5        |
| 2        | Desamparados      | Lenguado | 5   | 188,05 | 28,5        |
| 2        | Desamparados      | Lenguado | 6   | 125,02 | 23,5        |
| 2        | Puente Zuazo      | Dorada   | 1   | 36,58  | 13,5        |
| 2        | Puente Zuazo      | Dorada   | 2   | 90,24  | 17          |
| 2        | Puente Zuazo      | Lenguado | 1   | 57,18  | 14          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 10  | 155,91 | 21          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 11  | 170,7  | 22          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 12  | 153,74 | 21          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 1   | 166,69 | 21          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 2   | 155,99 | 21          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 3   | 166,7  | 20          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 4   | 162,2  | 20          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 5   | 167,99 | 20          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 6   | 158,61 | 20          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 7   | 143,55 | 19          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 8   | 141,86 | 19          |
| 3        | Desamparados      | Dorada   | 9   | 151,96 | 21          |
| 3        | Desamparados      | Lenguado | 1   | 144,91 | 24,3        |

**TABLA A.18 (cont.).** Datos de longitud y peso de los peces analizados.

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | ESPECIE  | PEZ | PESO g | LONGITUD cm |
|----------|-------------------|----------|-----|--------|-------------|
| 3        | Desamparados      | Lenguado | 2   | 139,99 | 24          |
| 3        | Desamparados      | Lenguado | 3   | 161,65 | 27          |
| 3        | Desamparados      | Lenguado | 4   | 139,56 | 23,5        |
| 3        | Desamparados      | Lenguado | 5   | 133,6  | 24,5        |
| 3        | Desamparados      | Lenguado | 6   | 188,03 | 26,5        |
| 3        | Odiel             | Dorada   | 1   | 130,5  | 20,8        |
| 3        | Odiel             | Dorada   | 2   | 99,5   | 19          |
| 3        | Odiel             | Dorada   | 3   | 110,5  | 19,2        |
| 3        | Odiel             | Dorada   | 4   | 88     | 18,3        |
| 3        | Odiel             | Dorada   | 5   | 103    | 18,5        |
| 3        | Odiel             | Dorada   | 6   | 114    | 19,5        |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 10  | 149,5  | 24,2        |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 11  | 105    | 21,8        |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 12  | 142    | 24          |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 1   | 133,5  | 24          |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 2   | 108,5  | 22          |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 3   | 122,5  | 23          |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 4   | 135    | 23,2        |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 5   | 136    | 22,8        |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 6   | 113,5  | 22          |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 7   | 143,5  | 24,3        |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 8   | 92     | 21          |
| 3        | Odiel             | Lenguado | 9   | 149,5  | 24,2        |
| 3        | Tinto             | Dorada   | 1   | 101    | 18,5        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 10  | 153,5  | 24          |



**TABLA A.18 (cont.).** Datos de longitud y peso de los peces analizados.

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | ESPECIE  | PEZ | PESO g | LONGITUD cm |
|----------|-------------------|----------|-----|--------|-------------|
| 3        | Tinto             | Lenguado | 11  | 105    | 21,3        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 12  | 129,5  | 23,4        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 1   | 123    | 23,1        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 2   | 143,5  | 23,6        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 3   | 142    | 23,7        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 4   | 138,5  | 23          |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 5   | 193,5  | 26,5        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 6   | 139,5  | 24,2        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 7   | 108    | 22,7        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 8   | 100    | 19,9        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 9   | 144,5  | 24,3        |
| 3        | Padre Santo       | Dorada   | 1   | 87     | 18,5        |
| 3        | Tinto             | Lenguado | 11  | 105    | 21,3        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 10  | 117    | 23          |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 11  | 113    | 22,5        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 12  | 121,5  | 22,8        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 1   | 164    | 25          |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 2   | 179,5  | 26          |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 3   | 157    | 25          |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 4   | 196,5  | 27,1        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 5   | 159    | 26,3        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 6   | 133,5  | 23,2        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 7   | 164,5  | 24,5        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 8   | 110    | 21,5        |
| 3        | Padre Santo       | Lenguado | 9   | 103,5  | 21,5        |

**TABLA A.18 (cont.).** Datos de longitud y peso de los peces analizados.

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | ESPECIE  | PEZ | PESO g | LONGITUD cm |
|----------|-------------------|----------|-----|--------|-------------|
| 4        | Odiel             | Dorada   | 1   | 519    | 33          |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 10  | 70     | 20          |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 1   | 110    | 23          |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 2   | 145    | 26          |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 3   | 131    | 23          |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 4   | 140    | 25          |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 5   | 118    | 23,5        |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 6   | 141    | 25          |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 7   | 144    | 26,3        |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 8   | 97,5   | 22,5        |
| 4        | Odiel             | Lenguado | 9   | 106    | 23          |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 10  | 71,5   | 19          |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 11  | 73,5   | 19,8        |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 12  | 113    | 22,5        |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 1   | 117,5  | 22,3        |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 2   | 112,5  | 22          |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 3   | 103    | 22,2        |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 4   | 89,5   | 20,8        |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 5   | 104,5  | 22          |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 6   | 124    | 23          |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 7   | 88,5   | 21          |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 8   | 106,5  | 22          |
| 4        | Tinto             | Lenguado | 9   | 125    | 23,5        |
| 4        | Padre Santo       | Dorada   | 1   | 128    | 20,5        |
| 4        | Padre Santo       | Dorada   | 2   | 81     | 18          |

**TABLA A.18 (cont.).** Datos de longitud y peso de los peces analizados.

| MUESTREO | PUNTO DE MUESTREO | ESPECIE  | PEZ | PESO g | LONGITUD cm |
|----------|-------------------|----------|-----|--------|-------------|
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 1   | 213,4  | 25,3        |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 2   | 300,23 | 27,9        |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 3   | 489    | 37          |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 4   | 126,8  | 24          |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 5   | 118    | 23          |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 6   | 121,6  | 21,5        |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 7   | 136,2  | 23          |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 8   | 134,4  | 22,9        |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 9   | 184,2  | 27          |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 10  | 113,1  | 22          |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 11  | 87,5   | 19          |
| 4        | Puente Zuazo      | Lenguado | 12  | 85,6   | 21,1        |
| 4        | Puente Zuazo      | Dorada   | 1   | 91,1   | 21,4        |
| 4        | Puente Zuazo      | Dorada   | 2   | 75,7   | 19          |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 1   | 22,5   | 14          |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 2   | 17,92  | 12          |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 3   | 90     | 18,5        |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 4   | 129,5  | 20          |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 5   | 103,22 | 18,3        |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 6   | 107,94 | 19          |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 7   | 128    | 20,4        |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 8   | 116,7  | 20          |
| 4        | Desamparados      | Dorada   | 9   | 131,3  | 20,4        |
| 4        | Desamparados      | Lenguado | 1   | 129,3  | 19,7        |
| 4        | Desamparados      | Lenguado | 2   | 105,2  | 19,4        |

## A.4. TABLAS ESTADÍSTICA

### A.4.1. ESTUDIO DE LA NORMALIDAD Y HOMOGENEIDAD DE LOS DATOS

En este anexo se muestran los estudios de normalidad y homogeneidad que se ha realizado a las distribuciones de los datos como paso previo para seleccionar el tipo de estudios estadísticos que se aplican a los datos, paramétricos o no paramétricos.

#### A.4.1.1. RÍA DE HUELVA

**TABLA A.19.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de los parámetros físico-químicos y niveles totales de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| VARIABLE              | W       | p       |
|-----------------------|---------|---------|
| T <sup>a</sup>        | 0,93566 | 0,44396 |
| pH                    | 0,90347 | 0,17582 |
| O <sub>2</sub>        | 0,86936 | 0,06413 |
| Salinidad             | 0,89378 | 0,13183 |
| Sol. Susp.            | 0,97904 | 0,97956 |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,92668 | 0,34626 |
| COD                   | 0,89839 | 0,1512  |
| % M.O.<br>sedimento   | 0,94101 | 0,51125 |
| As                    | 0,89636 | 0,14234 |
| Pb                    | 0,66447 | 0,00039 |
| Cd                    | 0,78156 | 0,00583 |
| Cu                    | 0,93238 | 0,40599 |
| Zn                    | 0,15642 | 0,15642 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.20.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de los niveles totales de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| VARIABLE | W       | p       |
|----------|---------|---------|
| Log Pb   | 0,88773 | 0,11018 |
| Log Cd   | 0,93035 | 0,38384 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.21.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de los niveles totales parámetros físico-químicos y de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| VARIABLE              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| T <sup>a</sup>        | 0,00993       | 10 | 0,922580 | 0,08996                 | 10 | 0,770369 |
| pH                    | 4,86031       | 10 | 0,052033 | 4,02922                 | 10 | 0,072501 |
| O <sub>2</sub>        | 0,00677       | 10 | 0,936055 | 0,08046                 | 10 | 0,782466 |
| Salinidad             | 6,64367       | 10 | 0,027533 | 3,37536                 | 10 | 0,096035 |
| Sol. Susp.            | 0,30583       | 10 | 0,592400 | 0,30567                 | 10 | 0,592493 |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 1,716373      | 10 | 0,219455 | 1,19572                 | 10 | 0,299821 |
| COD                   | 36,96530      | 10 | 0,000119 | 33,30748                | 10 | 0,000180 |
| % M.O.<br>sedimento   | 2,43551       | 10 | 0,149676 | 2,34396                 | 10 | 0,156769 |
| As                    | 2,98025       | 10 | 0,114991 | 2,68332                 | 10 | 0,132444 |
| Log Pb                | 4,207264      | 10 | 0,067377 | 3,972642                | 10 | 0,074230 |
| Log Cd                | 2,943347      | 10 | 0,116995 | 2,796257                | 10 | 0,125433 |
| Cu                    | 0,00914       | 10 | 0,925706 | 0,02164                 | 10 | 0,885985 |
| Zn                    | 0,17510       | 10 | 0,684460 | 0,35445                 | 10 | 0,564834 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.22.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Tinto) de los niveles totales parámetros físico-químicos y de metales en agua en las estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| VARIABLE              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| T <sup>a</sup>        | 0,355872      | 6  | 0,572612 | 0,355661                | 6  | 0,572723 |
| pH                    | 0,076056      | 6  | 0,791967 | 0,000545                | 6  | 0,982129 |
| O <sub>2</sub>        | 0,024465      | 6  | 0,880839 | 0,249034                | 6  | 0,635522 |
| Salinidad             | 0,072711      | 6  | 0,796464 | 0,066412                | 6  | 0,805246 |
| Sol. Susp.            | 0,000966      | 6  | 0,976208 | 0,001172                | 6  | 0,973795 |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,279152      | 6  | 0,616220 | 0,060904                | 6  | 0,813299 |
| COD                   | 0,013647      | 6  | 0,910815 | 0,000132                | 6  | 0,991198 |
| % M.O.<br>sedimento   | 0,546693      | 6  | 0,487580 | 0,388165                | 6  | 0,556190 |
| As                    | 0,572153      | 6  | 0,478043 | 0,133833                | 6  | 0,727042 |
| Log Pb                | 1,310966      | 6  | 0,295829 | 0,443297                | 6  | 0,530285 |
| Log Cd                | 0,046842      | 6  | 0,835823 | 0,038054                | 6  | 0,851773 |
| Cu                    | 2,701381      | 6  | 0,151366 | 1,988151                | 6  | 0,208208 |
| Zn                    | 0,422335      | 6  | 0,539842 | 0,292706                | 6  | 0,607977 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.23.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Padre Sto) de los niveles totales parámetros físico-químicos y de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| VARIABLE              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| T <sup>a</sup>        | 0,020064      | 6  | 0,891994 | 0,019536                | 6  | 0,893414 |
| pH                    | 0,158515      | 6  | 0,704307 | 0,266359                | 6  | 0,624245 |
| O <sub>2</sub>        | 0,272244      | 6  | 0,620523 | 0,378141                | 6  | 0,561181 |
| Salinidad             | 6,964463      | 6  | 0,038591 | 6,331330                | 6  | 0,045519 |
| Sol. Susp.            | 0,067470      | 6  | 0,803740 | 0,086744                | 6  | 0,778283 |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,026797      | 6  | 0,875046 | 0,025393                | 6  | 0,378621 |
| COD                   | 0,053713      | 6  | 0,824425 | 0,120133                | 6  | 0,740722 |
| % M.O.<br>sedimento   | 0,687781      | 6  | 0,438661 | 0,252828                | 6  | 0,633010 |
| As                    | 0,791814      | 6  | 0,407812 | 0,337150                | 6  | 0,582615 |
| Log Pb                | 0,534659      | 6  | 0,492211 | 0,246152                | 6  | 0,637446 |
| Log Cd                | 2,258696      | 6  | 0,183555 | 1,994769                | 6  | 0,207549 |
| Cu                    | 0,768917      | 6  | 0,414279 | 0,245610                | 6  | 0,637810 |
| Zn                    | 2,536705      | 6  | 0,162334 | 1,754198                | 6  | 0,233562 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.24.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Tinto, Pdre Sto) de los niveles totales parámetros físico-químicos y de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| VARIABLE              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| T <sup>a</sup>        | 0,461141      | 6  | 0,522409 | 0,449964                | 6  | 0,527315 |
| pH                    | 0,016790      | 6  | 0,901135 | 0,200578                | 6  | 0,669972 |
| O <sub>2</sub>        | 0,109935      | 6  | 0,751493 | 0,000251                | 6  | 0,987865 |
| Salinidad             | 5,409006      | 6  | 0,058985 | 4,953608                | 6  | 0,067668 |
| Sol. Susp.            | 0,138310      | 6  | 0,722748 | 0,137248                | 6  | 0,723759 |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,440687      | 6  | 0,531457 | 0,123560                | 6  | 0,737200 |
| COD                   | 0,140290      | 6  | 0,720874 | 0,126298                | 6  | 0,734462 |
| % M.O.<br>sedimento   | 0,025464      | 6  | 0,878453 | 0,000260                | 6  | 0,987658 |
| As                    | 0,008874      | 6  | 0,928016 | 0,112156                | 6  | 0,749101 |
| Log Pb                | 0,363018      | 6  | 0,568891 | 0,019609                | 6  | 0,893217 |
| Log Cd                | 3,055091      | 6  | 0,131074 | 2,798298                | 6  | 0,145393 |
| Cu                    | 0,059653      | 6  | 0,815183 | 0,194383                | 6  | 0,674735 |
| Zn                    | 2,214102      | 6  | 0,187321 | 2,202244                | 6  | 0,188341 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos



**TABLA A.25.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| % FRACCIÓN<br>DISUELTA | W       | p       |
|------------------------|---------|---------|
| As                     | 0,97265 | 0,93651 |
| Pb                     | 0,90380 | 0,17759 |
| Cd                     | 0,94691 | 0,59241 |
| Cu                     | 0,94682 | 0,59106 |
| Zn                     | 0,91174 | 0,22458 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.26.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| % FRACCIÓN<br>DISUELTA | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As                     | 0,980456      | 10 | 0,345440 | 0,790919                | 10 | 0,394713 |
| Pb                     | 3,251039      | 10 | 0,101544 | 3,238115                | 10 | 0,102139 |
| Cd                     | 1,603683      | 10 | 0,234085 | 1,384707                | 10 | 0,266551 |
| Cu                     | 0,181192      | 10 | 0,679366 | 0,078106                | 10 | 0,785576 |
| Zn                     | 0,042034      | 10 | 0,841668 | 0,013551                | 10 | 0,909634 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.27.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Tinto) de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| % FRACCIÓN<br>DISUELTA | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As                     | 0,047800      | 6  | 0,834184 | 0,220879                | 6  | 0,654967 |
| Pb                     | 1,133837      | 6  | 0,327922 | 0,226588                | 6  | 0,650902 |
| Cd                     | 0,661143      | 6  | 0,447213 | 0,561573                | 6  | 0,481964 |
| Cu                     | 1,135778      | 6  | 0,327541 | 0,825957                | 6  | 0,398478 |
| Zn                     | 0,186321      | 6  | 0,681075 | 0,169087                | 6  | 0,695209 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.28.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Padre Sto) de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| % FRACCIÓN<br>DISUELTA | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As                     | 0,268614      | 6  | 0,622813 | 0,118289                | 6  | 0,742630 |
| Pb                     | 0,120128      | 6  | 0,740727 | 0,250782                | 6  | 0,634362 |
| Cd                     | 2,606021      | 6  | 0,157586 | 2,198081                | 6  | 0,188701 |
| Cu                     | 0,162211      | 6  | 0,701086 | 0,153547                | 6  | 0,708708 |
| Zn                     | 0,002963      | 6  | 0,958355 | 0,002764                | 6  | 0,959781 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.29.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Tinto, Padre Sto) de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| % FRACCIÓN<br>DISUELTA | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As                     | 0,15381       | 6  | 0,708468 | 0,00070                 | 6  | 0,979694 |
| Pb                     | 19,12745      | 6  | 0,004701 | 18,26633                | 6  | 0,005241 |
| Cd                     | 1,31878       | 6  | 0,294525 | 1,22227                 | 6  | 0,311264 |
| Cu                     | 0,18692       | 6  | 0,680599 | 0,16151                 | 6  | 0,701697 |
| Zn                     | 0,93816       | 6  | 0,370158 | 0,75688                 | 6  | 0,417747 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.30.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN                           | W       | p       |
|------------------------------------|---------|---------|
| As % fracción inorgánica           | 0,89058 | 0,11987 |
| Pb% fracción lábil inorgánica      | 0,32693 | 0       |
| Pb % fracción lábil orgánica       | 0,44892 | 0,0001  |
| Pb% fracción poco lábil inorgánica | 0,40612 | 0       |
| Pb % fracción poco lábil orgánica  | 0,55817 | 0,00005 |
| Pb % fracción no lábil             | 0,56989 | 0,00006 |
| Cd% fracción lábil inorgánica      | 0,86522 | 0,05685 |
| Cd % fracción lábil orgánica       | 0,89293 | 0,12856 |
| Cd% fracción poco lábil inorgánica | 0,87472 | 0,07503 |
| Cd % fracción poco lábil orgánica  | 0,32693 | 0       |
| Cd % fracción no lábil             | 0,77814 | 0,00534 |
| Cu% fracción lábil inorgánica      | 0,86231 | 0,05225 |
| Cu % fracción lábil orgánica       | 0,53196 | 0,00003 |
| Cu% fracción poco lábil inorgánica | 0,93110 | 0,39193 |
| Cu % fracción poco lábil orgánica  | 0,90639 | 0,19173 |
| Cu % fracción no lábil             | 0,56271 | 0,00005 |
| Zn% fracción lábil inorgánica      | 0,89583 | 0,14014 |
| Zn % fracción lábil orgánica       | 0,72639 | 0,00153 |
| Zn% fracción poco lábil inorgánica | 0,84423 | 0,03118 |
| Zn % fracción poco lábil orgánica  | 0,60939 | 0,00013 |
| Zn % fracción no lábil             | 0,83800 | 0,02618 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.31.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN            | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|---------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                     | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As % inorg          | 0,44999       | 10 | 0,517532 | 0,17340                 | 10 | 0,685906 |
| Pb % lab inorg      | 6,25000       | 10 | 0,031447 | 1,00000                 | 10 | 0,340893 |
| Pb % lab org        | 2,53999       | 10 | 0,142080 | 0,40640                 | 10 | 0,538125 |
| Pb % poco lab inorg | 5,76437       | 10 | 0,037258 | 1,47492                 | 10 | 0,252470 |
| Pb % poco lab org   | 0,03474       | 10 | 0,855870 | 0,00987                 | 10 | 0,922836 |
| Pb % no labil       | 0,40980       | 10 | 0,536464 | 0,23525                 | 10 | 0,638111 |
| Cd % lab inorg      | 0,28663       | 10 | 0,604091 | 0,52783                 | 10 | 0,484181 |
| Cd % lab org        | 24,08073      | 10 | 0,000616 | 16,39608                | 10 | 0,002327 |
| Cd % poco lab inorg | 1,16631       | 10 | 0,305519 | 0,89053                 | 10 | 0,367575 |
| Cd % poco lab org   | 6,25000       | 10 | 0,031447 | 1,00000                 | 10 | 0,340893 |
| Cd % no labil       | 8,20459       | 10 | 0,016831 | 8,67897                 | 10 | 0,014634 |
| Cu % lab inorg      | 0,00045       | 10 | 0,983406 | 0,12175                 | 10 | 0,734381 |
| Cu % lab org        | 3,15091       | 10 | 0,106273 | 0,87601                 | 10 | 0,371349 |
| Cu % poco lab inorg | 0,12183       | 10 | 0,734297 | 0,15407                 | 10 | 0,702917 |
| Cu % poco lab org   | 0,24008       | 10 | 0,634716 | 0,26710                 | 10 | 0,616519 |
| Cu% no labil        | 4,11165       | 10 | 0,070071 | 0,85315                 | 10 | 0,377412 |
| Zn% lab inorg       | 1,70308       | 10 | 0,221115 | 1,67247                 | 10 | 0,225003 |
| Zn % lab org        | 7,17107       | 10 | 0,023177 | 1,58479                 | 10 | 0,236666 |
| Zn % poco lab inorg | 9,46860       | 10 | 0,011698 | 1,77172                 | 10 | 0,212719 |
| Zn % poco lab org   | 4,91749       | 10 | 0,050906 | 4,42888                 | 10 | 0,061610 |
| Zn % no lab         | 5,35222       | 10 | 0,043250 | 1,40719                 | 10 | 0,262942 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.32.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Tinto) de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN            | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|---------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                     | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As % inorg          | 11,41883      | 6  | 0,014873 | 9,14724                 | 6  | 0,023264 |
| Pb % lab inorg      |               |    |          |                         |    |          |
| Pb % lab org        | 9,00000       | 6  | 0,024008 | 1,00000                 | 6  | 0,355918 |
| Pb % poco lab inorg | 9,00000       | 6  | 0,024008 | 1,00000                 | 6  | 0,355918 |
| Pb % poco lab org   | 8,99991       | 6  | 0,024009 | 1,00676                 | 6  | 0,354414 |
| Pb % no labil       | 4,12950       | 6  | 0,088404 | 0,66354                 | 6  | 0,446431 |
| Cd % lab inorg      | 0,30168       | 6  | 0,602657 | 0,01529                 | 6  | 0,905613 |
| Cd % lab org        | 3,91551       | 6  | 0,095187 | 2,06385                 | 6  | 0,200853 |
| Cd % poco lab inorg | 0,83485       | 6  | 0,396106 | 0,55656                 | 6  | 0,483841 |
| Cd % poco lab org   | 9,00000       | 6  | 0,024008 | 1,00000                 | 6  | 0,355918 |
| Cd % no labil       | 0,94085       | 6  | 0,369518 | 0,63300                 | 6  | 0,456570 |
| Cu % lab inorg      | 10,15782      | 6  | 0,018905 | 4,65667                 | 6  | 0,074288 |
| Cu % lab org        | 0,24120       | 6  | 0,640783 | 0,53287                 | 6  | 0,492905 |
| Cu % poco lab inorg | 26,29522      | 6  | 0,002161 | 24,72758                | 6  | 0,002520 |
| Cu % poco lab org   | 0,22073       | 6  | 0,655075 | 0,20256                 | 6  | 0,668466 |
| Cu% no labil        | 4,80949       | 6  | 0,070776 | 0,53439                 | 6  | 0,492316 |
| Zn% lab inorg       | 0,70624       | 6  | 0,432901 | 0,74074                 | 6  | 0,422477 |
| Zn % lab org        | 1,62607       | 6  | 0,249396 | 0,38090                 | 6  | 0,559797 |
| Zn % poco lab inorg | 1,71326       | 6  | 0,238458 | 1,54725                 | 6  | 0,259933 |
| Zn % poco lab org   | 3,88652       | 6  | 0,096160 | 0,62775                 | 6  | 0,458353 |
| Zn % no lab         | 2,53934       | 6  | 0,162150 | 1,81142                 | 6  | 0,226963 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.33.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Padre Sto) de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en la Ría de (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN            | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|---------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                     | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As % inorg          | 1,1105        | 6  | 0,332554 | 0,9374                  | 6  | 0,370348 |
| Pb % lab inorg      | 9,0000        | 6  | 0,024008 | 1,0000                  | 6  | 0,355918 |
| Pb % lab org        | 9,0000        | 6  | 0,024008 | 1,0000                  | 6  | 0,355918 |
| Pb % poco lab inorg | 5,6993        | 6  | 0,054223 | 0,6333                  | 6  | 0,456482 |
| Pb % poco lab org   | 302,5024      | 6  | 0,000002 | 201,6683                | 6  | 0,000008 |
| Pb % no labil       | 31,3890       | 6  | 0,001378 | 21,3105                 | 6  | 0,003629 |
| Cd % lab inorg      | 0,0462        | 6  | 0,836949 | 0,0139                  | 6  | 0,910136 |
| Cd % lab org        | 2,8864        | 6  | 0,140247 | 1,8743                  | 6  | 0,220022 |
| Cd % poco lab inorg | 0,0611        | 6  | 0,813045 | 0,0008                  | 6  | 0,978875 |
| Cd % poco lab org   | 9,0000        | 6  | 0,024008 | 1,0000                  | 6  | 0,355918 |
| Cd % no labil       | 8,1829        | 6  | 0,028780 | 5,4553                  | 6  | 0,058189 |
| Cu % lab inorg      | 13,7389       | 6  | 0,010010 | 6,2087                  | 6  | 0,047052 |
| Cu % lab org        | 6,5088        | 6  | 0,043419 | 1,8630                  | 6  | 0,221241 |
| Cu % poco lab inorg | 3,4407        | 6  | 0,113018 | 3,2603                  | 6  | 0,121005 |
| Cu % poco lab org   | 2,8110        | 6  | 0,144637 | 2,8027                  | 6  | 0,145132 |
| Cu% no labil        | 4,2452        | 6  | 0,085010 | 0,3216                  | 6  | 0,591220 |
| Zn% lab inorg       | 0,0017        | 6  | 0,968896 | 0,0245                  | 6  | 0,880746 |
| Zn % lab org        | 1,3359        | 6  | 0,291706 | 0,9766                  | 6  | 0,361198 |
| Zn % poco lab inorg | 4,1374        | 6  | 0,088168 | 2,6966                  | 6  | 0,151668 |
| Zn % poco lab org   | 0,1181        | 6  | 0,742875 | 0,0049                  | 6  | 0,946629 |
| Zn % no lab         | 0,1826        | 6  | 0,684025 | 0,1594                  | 6  | 0,703574 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.34.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Tinto, Pdre Sto) de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN            | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|---------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                     | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As % inorg          | 8,87351       | 6  | 0,024674 | 6,83117                 | 6  | 0,039925 |
| Pb % lab inorg      | 9,00000       | 6  | 0,024008 | 1,00000                 | 6  | 0,355918 |
| Pb % lab org        | 3,65758       | 6  | 0,104348 | 0,40640                 | 6  | 0,547344 |
| Pb % poco lab inorg | 9,00000       | 6  | 0,024008 | 1,00000                 | 6  | 0,355918 |
| Pb % poco lab org   | 75,55273      | 6  | 0,000128 | 29,92586                | 6  | 0,001557 |
| Pb % no labil       | 22,79173      | 6  | 0,003082 | 14,98717                | 6  | 0,008253 |
| Cd % lab inorg      | 0,10949       | 6  | 0,751977 | 0,00062                 | 6  | 0,980879 |
| Cd % lab org        | 0,67950       | 6  | 0,441288 | 0,28555                 | 6  | 0,612295 |
| Cd % poco lab inorg | 0,55153       | 6  | 0,485741 | 0,09027                 | 6  | 0,773975 |
| Cd % poco lab org   | 0,30652       | 6  | 0,599834 | 0,03406                 | 6  | 0,859664 |
| Cd % no labil       | 5,14349       | 6  | 0,063849 | 3,51646                 | 6  | 0,109881 |
| Cu % lab inorg      | 1,18239       | 6  | 0,318609 | 1,01078                 | 6  | 0,353525 |
| Cu % lab org        | 6,26765       | 6  | 0,046307 | 1,67018                 | 6  | 0,243771 |
| Cu % poco lab inorg | 71,02007      | 6  | 0,000152 | 70,70874                | 6  | 0,000154 |
| Cu % poco lab org   | 1,35886       | 6  | 0,287973 | 1,29526                 | 6  | 0,298476 |
| Cu% no labil        | 0,07210       | 6  | 0,797298 | 0,32398                 | 6  | 0,589879 |
| Zn% lab inorg       | 1,20125       | 6  | 0,315104 | 1,11252                 | 6  | 0,332143 |
| Zn % lab org        | 4,16418       | 6  | 0,087368 | 1,17540                 | 6  | 0,319926 |
| Zn % poco lab inorg | 0,05512       | 6  | 0,822182 | 0,14261                 | 6  | 0,718697 |
| Zn % poco lab org   | 3,21902       | 6  | 0,122942 | 0,55400                 | 6  | 0,484809 |
| Zn % no lab         | 1,12398       | 6  | 0,329864 | 1,01971                 | 6  | 0,351563 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos



**TABLA A.35.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica ( $x+1$ ) (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN                                     | W       | p       |
|--|---------|---------|
| Log (As % fracción inorgánica + 1)           | 0,80275 | 0,01007 |
| Log (Pb% fracción lábil inorgánica + 1)      | 0,32693 | 0       |
| Log (Pb % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,48086 | 0,0001  |
| Log (Pb% fracción poco lábil inorgánica + 1) | 0,48308 | 0,0001  |
| Log (Pb % fracción poco lábil orgánica + 1)  | 0,58511 | 0,0008  |
| Log (Pb % fracción no lábil + 1)             | 0,43897 | 0,0001  |
| Log (Cd% fracción lábil inorgánica + 1)      | 0,85522 | 0,05685 |
| Log (Cd % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,91543 | 0,25025 |
| Log (Cd% fracción poco lábil inorgánica +1)  | 0,87472 | 0,07503 |
| Log (Cd % fracción poco lábil orgánica + 1)  | 0,32693 | 0       |
| Log (Cd % fracción no lábil + 1)             | 0,82111 | 0,01645 |
| Log (Cu% fracción lábil inorgánica + 1)      | 0,86216 | 0,05203 |
| Log (Cu % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,85486 | 0,04218 |
| Log (Cu% fracción poco lábil inorgánica + 1) | 0,73099 | 0,0017  |
| Log (Cu % fracción poco lábil orgánica +1)   | 0,90639 | 0,19173 |
| Log (Cu % fracción no lábil + 1)             | 0,68037 | 0,00055 |
| Log (Zn% fracción lábil inorgánica + 1)      | 0,89583 | 0,14014 |
| Log (Zn % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,95883 | 0,76707 |
| Log (Zn% fracción poco lábil inorgánica + 1) | 0,84386 | 0,03504 |
| Log (Zn % fracción poco lábil orgánica + 1)  | 0,83897 | 0,0269  |
| Log (Zn % fracción no lábil + 1)             | 0,86046 | 0,04954 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.36.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de lo niveles totales de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL | W       | p       |
|-------|---------|---------|
| As    | 0,9377  | 0,46888 |
| Pb    | 0,86375 | 0,05449 |
| Cd    | 0,79987 | 0,00934 |
| Cu    | 0,96636 | 0,86922 |
| Zn    | 0,96016 | 0,78607 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.37.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de lo niveles totales de metales en sedimento de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL  | W       | p       |
|--------|---------|---------|
| Log Cd | 0,96071 | 0,79398 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.38.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de lo niveles totales de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL  | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|--------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As     | 0,010491      | 10 | 0,920443 | 0,023203                | 10 | 0,881959 |
| Pb     | 0,214559      | 10 | 0,653134 | 0,413385                | 10 | 0,534720 |
| Log Cd | 0,006009      | 10 | 0,939739 | 0,052018                | 10 | 0,824185 |
| Cu     | 0,751537      | 10 | 0,406311 | 0,882156                | 10 | 0,369744 |
| Zn     | 0,262210      | 10 | 0,619724 | 0,389649                | 10 | 0,546460 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.39.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Tinto) de lo niveles totales de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL  | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|--------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As     | 0,855373      | 6  | 0,390718 | 0,802756                | 6  | 0,404781 |
| Pb     | 2,034549      | 6  | 0,203655 | 1,719502                | 6  | 0,237701 |
| Log Cd | 2,590091      | 6  | 0,158659 | 2,120186                | 6  | 0,195621 |
| Cu     | 0,624147      | 6  | 0,459586 | 0,575880                | 6  | 0,476675 |
| Zn     | 1,008838      | 6  | 0,353954 | 1,004082                | 6  | 0,355009 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.40.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Pdre Sto) de lo niveles totales de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL  | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|--------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As     | 0,007613      | 6  | 0,933310 | 0,007105                | 6  | 0,935569 |
| Pb     | 0,924249      | 6  | 0,373488 | 0,764686                | 6  | 0,415492 |
| Log Cd | 0,096749      | 6  | 0,766289 | 0,087884                | 6  | 0,776879 |
| Cu     | 0,547137      | 6  | 0,487410 | 0,647086                | 6  | 0,451844 |
| Zn     | 5,428976      | 6  | 0,058639 | 5,353605                | 6  | 0,059957 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.41.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Tinto, Padre Sto) de los niveles totales de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| METAL  | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|--------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As     | 1,629918      | 6  | 0,248898 | 1,404538                | 6  | 0,280773 |
| Pb     | 0,819367      | 6  | 0,400252 | 0,854751                | 6  | 0,390879 |
| Log Cd | 1,174582      | 6  | 0,320080 | 1,258606                | 6  | 0,304795 |
| Cu     | 0,000528      | 6  | 0,982406 | 0,061685                | 6  | 0,812134 |
| Zn     | 1,535105      | 6  | 0,261615 | 1,515872                | 6  | 0,264313 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.42.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación en tanto por ciento de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN                     | W       | p       |
|------------------------------|---------|---------|
| As % fracción intercambiable | 0,85985 | 0,04867 |
| As % fracción reducible      | 0,82216 | 0,01693 |
| As % fracción oxidable       | 0,88498 | 0,10156 |
| As % fracción residual       | 0,89131 | 0,12250 |
| Pb % fracción intercambiable | 0,76456 | 0,00381 |
| Pb % fracción reducible      | 0,92578 | 0,33758 |
| Pb % fracción oxidable       | 0,91355 | 0,23687 |
| Pb % fracción residual       | 0,89063 | 0,12008 |
| Cd % fracción intercambiable | 0,93884 | 0,48316 |
| Cd % fracción reducible      | 0,88659 | 0,10651 |
| Cd % fracción oxidable       | 0,88185 | 0,09257 |
| Cd % fracción residual       | 0,96034 | 0,78868 |
| Cu % fracción intercambiable | 0,909   | 0,20712 |
| Cu % fracción reducible      | 0,90345 | 0,17575 |
| Cu % fracción oxidable       | 0,90215 | 0,16909 |
| Cu % fracción residual       | 0,91076 | 0,21822 |
| Zn % fracción intercambiable | 0,91951 | 0,28189 |
| Zn % fracción reducible      | 0,99184 | 0,9995  |
| Zn % fracción oxidable       | 0,95676 | 0,73674 |
| Zn % fracción residual       | 0,95417 | 0,69483 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.43.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación en tanto por ciento de metales en sedimento de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN                               | W       | p       |
|--|---------|---------|
| Log (As % fracción intercambiable + 1) | 0,95899 | 0,76927 |
| Log (As % fracción reducible + 1)      | 0,95460 | 0,70490 |
| Log (Pb % fracción intercambiable +1)  | 0,90080 | 0,16244 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.44.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % interc + 1) | 2,81042       | 10 | 0,124588 | 2,36434                 | 10 | 0,155154 |
| Log (As % red + 1)    | 0,02032       | 10 | 0,889467 | 0,04769                 | 10 | 0,831532 |
| As % ox               | 0,00737       | 10 | 0,933259 | 0,24153                 | 10 | 0,633713 |
| As % residuo          | 4,09531       | 10 | 0,070545 | 0,20116                 | 10 | 0,663348 |
| Log (Pb % interc + 1) | 1,49762       | 10 | 0,249090 | 0,34952                 | 10 | 0,567510 |
| Pb % red              | 1,79723       | 10 | 0,209707 | 1,37486                 | 10 | 0,268153 |
| Pb % ox               | 21,92695      | 10 | 0,000864 | 19,52692                | 10 | 0,001296 |
| Pb % residuo          | 5,93235       | 10 | 0,035110 | 4,97895                 | 10 | 0,049728 |
| Cd % interc           | 0,80219       | 10 | 0,391490 | 0,68392                 | 10 | 0,427534 |
| Cd % red              | 0,00494       | 10 | 0,945339 | 0,00008                 | 10 | 0,992979 |
| Cd % ox               | 7,25763       | 10 | 0,022544 | 4,59230                 | 10 | 0,057746 |
| Cd % residuo          | 0,36834       | 10 | 0,557436 | 0,32655                 | 10 | 0,580314 |
| Cu % interc           | 4,65716       | 10 | 0,056295 | 3,33392                 | 10 | 0,097829 |
| Cu % red              | 0,73319       | 10 | 0,411900 | 0,24422                 | 10 | 0,631851 |
| Cu % ox               | 0,83017       | 10 | 0,383662 | 0,06028                 | 10 | 0,811023 |
| Cu % residuo          | 0,12076       | 10 | 0,735418 | 0,01123                 | 10 | 0,917706 |
| Zn % interc           | 0,26063       | 10 | 0,620769 | 0,17706                 | 10 | 0,682816 |
| Zn % red              | 6,23366       | 10 | 0,031624 | 2,25624                 | 10 | 0,163979 |
| Zn % red              | 0,59509       | 10 | 0,458296 | 0,44899                 | 10 | 0,517988 |
| Zn % residuo          | 0,52670       | 10 | 0,484636 | 0,15638                 | 10 | 0,700817 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.45.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a las estaciones de muestreo (Odiel, Tinto) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % interc + 1) | 3,36668       | 6  | 0,116204 | 3,03617                 | 6  | 0,132060 |
| Log (As % red + 1)    | 5,08308       | 6  | 0,065032 | 5,00365                 | 6  | 0,066632 |
| As % ox               | 43,24990      | 6  | 0,000593 | 34,72316                | 6  | 0,001060 |
| As % residuo          | 2,94570       | 6  | 0,136922 | 2,56209                 | 6  | 0,160572 |
| Log (Pb % interc + 1) | 1,27198       | 6  | 0,302466 | 0,89271                 | 6  | 0,381219 |
| Pb % red              | 0,05027       | 6  | 0,830031 | 0,00259                 | 6  | 0,961071 |
| Pb % ox               | 0,05942       | 6  | 0,815535 | 0,09051                 | 6  | 0,773682 |
| Pb % residuo          | 0,00174       | 6  | 0,968048 | 0,04216                 | 6  | 0,844101 |
| Cd % interc           | 0,56235       | 6  | 0,481674 | 0,39735                 | 6  | 0,551697 |
| Cd % red              | 0,09740       | 6  | 0,765529 | 0,16533                 | 6  | 0,698401 |
| Cd % ox               | 0,13523       | 6  | 0,725691 | 0,08279                 | 6  | 0,783229 |
| Cd % residuo          | 1,35554       | 6  | 0,288509 | 1,24551                 | 6  | 0,307102 |
| Cu % interc           | 0,42177       | 6  | 0,540104 | 0,00015                 | 6  | 0,990499 |
| Cu % red              | 2,40388       | 6  | 0,172013 | 2,26209                 | 6  | 0,183273 |
| Cu % ox               | 0,14743       | 6  | 0,714246 | 0,11944                 | 6  | 0,741433 |
| Cu % residuo          | 0,02993       | 6  | 0,868338 | 0,07855                 | 6  | 0,788686 |
| Zn % interc           | 1,63758       | 6  | 0,247910 | 0,24489                 | 6  | 0,638294 |
| Zn % red              | 1,50807       | 6  | 0,265418 | 1,47817                 | 6  | 0,269722 |
| Zn % red              | 0,07317       | 6  | 0,795833 | 0,06510                 | 6  | 0,807128 |
| Zn % residuo          | 4,15319       | 6  | 0,087694 | 3,25895                 | 6  | 0,121068 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos



**TABLA A.46.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a las estaciones de muestreo (Odiel, Padre Sto) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % interc + 1) | 0,33866       | 6  | 0,581796 | 0,29653                 | 6  | 0,605696 |
| Log (As % red + 1)    | 0,25536       | 6  | 0,631346 | 0,15452                 | 6  | 0,707841 |
| As % ox               | 1,37833       | 6  | 0,284871 | 0,66587                 | 6  | 0,445675 |
| As % residuo          | 1,54292       | 6  | 0,260531 | 1,33585                 | 6  | 0,291708 |
| Log (Pb % interc + 1) | 0,56973       | 6  | 0,478934 | 0,39253                 | 6  | 0,554048 |
| Pb % red              | 1,00864       | 6  | 0,353999 | 0,42056                 | 6  | 0,540666 |
| Pb % ox               | 0,02163       | 6  | 0,887893 | 0,02379                 | 6  | 0,882484 |
| Pb % residuo          | 0,65903       | 6  | 0,447903 | 0,19231                 | 6  | 0,676348 |
| Cd % interc           | 0,00530       | 6  | 0,944307 | 0,00359                 | 6  | 0,954147 |
| Cd % red              | 0,61248       | 6  | 0,463613 | 0,54941                 | 6  | 0,486544 |
| Cd % ox               | 0,21174       | 6  | 0,661614 | 0,01548                 | 6  | 0,905061 |
| Cd % residuo          | 3,19125       | 6  | 0,124269 | 2,81668                 | 6  | 0,144297 |
| Cu % interc           | 0,05547       | 6  | 0,821637 | 0,18057                 | 6  | 0,685704 |
| Cu % red              | 12,88012      | 6  | 0,011519 | 12,63114                | 6  | 0,012013 |
| Cu % ox               | 7,77817       | 6  | 0,031622 | 6,69729                 | 6  | 0,041328 |
| Cu % residuo          | 1,20911       | 6  | 0,313660 | 0,93556                 | 6  | 0,370776 |
| Zn % interc           | 0,06874       | 6  | 0,801953 | 0,06567                 | 6  | 0,806303 |
| Zn % red              | 0,06396       | 6  | 0,808790 | 0,06309                 | 6  | 0,810058 |
| Zn % ox               | 0,29517       | 6  | 0,606504 | 0,25428                 | 6  | 0,632057 |
| Zn % residuo          | 0,10421       | 6  | 0,757790 | 0,28864                 | 6  | 0,610422 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.47.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a las estaciones de muestreo (Tinto, Pdre Sto) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % interc + 1) | 5,46851       | 6  | 0,057964 | 5,06807                 | 6  | 0,065330 |
| Log (As % red + 1)    | 3,52482       | 6  | 0,109542 | 3,23856                 | 6  | 0,122020 |
| As % ox               | 2,21146       | 6  | 0,187547 | 1,54743                 | 6  | 0,259908 |
| As % residuo          | 0,43467       | 6  | 0,534176 | 0,37944                 | 6  | 0,560527 |
| Log (Pb % interc + 1) | 0,65812       | 6  | 0,448201 | 0,60725                 | 6  | 0,465442 |
| Pb % red              | 1,19311       | 6  | 0,316609 | 0,99409                 | 6  | 0,357240 |
| Pb % ox               | 0,01148       | 6  | 0,918171 | 0,02219                 | 6  | 0,886454 |
| Pb % residuo          | 0,58523       | 6  | 0,473274 | 0,55047                 | 6  | 0,486144 |
| Cd % interc           | 0,90384       | 6  | 0,378462 | 0,66070                 | 6  | 0,447357 |
| Cd % red              | 0,97703       | 6  | 0,361102 | 0,99770                 | 6  | 0,356432 |
| Cd % ox               | 0,00359       | 6  | 0,954177 | 0,01201                 | 6  | 0,916313 |
| Cd % residuo          | 0,50891       | 6  | 0,502400 | 0,48193                 | 6  | 0,513516 |
| Cu % interc           | 0,55131       | 6  | 0,485824 | 0,34688                 | 6  | 0,577371 |
| Cu % red              | 5,15286       | 6  | 0,063668 | 4,88078                 | 6  | 0,069215 |
| Cu % ox               | 18,57541      | 6  | 0,005038 | 13,61593                | 6  | 0,010209 |
| Cu % residuo          | 1,02236       | 6  | 0,350983 | 0,76394                 | 6  | 0,415707 |
| Zn % interc           | 0,86031       | 6  | 0,389439 | 0,12499                 | 6  | 0,735770 |
| Zn % red              | 2,42958       | 6  | 0,170078 | 2,41208                 | 6  | 0,171393 |
| Zn % red              | 0,65646       | 6  | 0,448746 | 0,56955                 | 6  | 0,479003 |
| Zn % residuo          | 9,37716       | 6  | 0,022162 | 8,12563                 | 6  | 0,029161 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.48.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (Otoño, Primavera) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica ( $X + 1$ ) (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN               | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % ox + 1)      | 0,774794      | 10 | 0,399398 | 0,619831                | 10 | 0,449367 |
| Log (Cu % red + 1)     | 3,757887      | 10 | 0,081279 | 3,753325                | 10 | 0,081438 |
| Log (Cu % ox + 1)      | 0,371775      | 10 | 0,555639 | 0,017211                | 10 | 0,898225 |
| Log (Zn % residuo + 1) | 0,295846      | 10 | 0,598415 | 0,039637                | 10 | 0,846181 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos  
df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.49.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Tinto) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica ( $X + 1$ ) (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN               | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % ox + 1)      | 35,70665      | 6  | 0,000985 | 32,39830                | 6  | 0,001269 |
| Log (Cu % red + 1)     | 0,39997       | 6  | 0,550432 | 0,32105                 | 6  | 0,591524 |
| Log (Cu % ox + 1)      | 0,09910       | 6  | 0,763568 | 0,07542                 | 6  | 0,792820 |
| Log (Zn % residuo + 1) | 11,12932      | 6  | 0,015688 | 7,63017                 | 6  | 0,032755 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos  
df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.50.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Odiel, Padre Sto) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica ( $X + 1$ ) (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN               | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % ox + 1)      | 1,23841       | 6  | 0,308364 | 0,10558                 | 6  | 0,756267 |
| Log (Cu % red + 1)     | 0,17985       | 6  | 0,686288 | 0,16600                 | 6  | 0,697830 |
| Log (Cu % ox + 1)      | 23,11638      | 6  | 0,002976 | 19,37381                | 6  | 0,004561 |
| Log (Zn % residuo + 1) | 0,68594       | 6  | 0,439242 | 0,80872                 | 6  | 0,403144 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos  
df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.51.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Tinto, Padre Sto) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica ( $X + 1$ ) (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN               | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As % ox + 1)      | 1,33148       | 6  | 0,292426 | 1,05181                 | 6  | 0,344647 |
| Log (Cu % red + 1)     | 0,12771       | 6  | 0,733055 | 0,09205                 | 6  | 0,771834 |
| Log (Cu % ox + 1)      | 59,91292      | 6  | 0,000244 | 48,97664                | 6  | 0,000424 |
| Log (Zn % residuo + 1) | 11,52630      | 6  | 0,014585 | 9,62434                 | 6  | 0,021054 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos  
df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.52.** Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de los niveles de metales en peces de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| METAL | D       | p    |
|-------|---------|------|
| As    | 0,38380 | 0,01 |
| Pb    | 0,21963 | 0,01 |
| Cd    | 0,32140 | 0,01 |
| Cu    | 0,35101 | 0,01 |
| Zn    | 0,16717 | 0,01 |

D- estadístico

**TABLA A.53.** Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de los niveles de metales en peces de la Ría de Huelva con transformación Logarítmica ( $X + 1$ ) (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| METAL        | D       | p    |
|--------------|---------|------|
| Log (As + 1) | 0,11298 | 0,01 |
| Log (Pb + 1) | 0,08617 | 0,01 |
| Log (Cd + 1) | 0,18170 | 0,01 |
| Log (Cu + 1) | 0,17945 | 0,01 |
| Log (Zn + 1) | 0,22287 | 0,01 |

D- estadístico

## A.4.1.2. BAHÍA DE CÁDIZ

**TABLA A.54.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de los parámetros físico-químicos y niveles totales de metales en agua en las estaciones de la Bahía de Cádiz (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| VARIABLE              | W        | p       |
|-----------------------|----------|---------|
| T <sup>a</sup>        | 0,85937  | 0,14944 |
| pH                    | 0,9626   | 0,84068 |
| O <sub>2</sub>        | 0,91912  | 0,46259 |
| Salinidad             | 0,8995   | 0,32797 |
| Sol. Susp.            | 0,61884  | 0,00045 |
| % M.O.<br>(Sol.Susp.) | 0,860179 | 0,1919  |
| COD                   | 0,91835  | 0,45666 |
| % M.O.<br>sedimento   | 0,87976  | 0,22541 |
| As                    | 0,94062  | 0,64435 |
| Pb                    | 0,8249   | 0,07156 |
| Cd                    | 0,86646  | 0,1728  |
| Cu                    | 0,85002  | 0,12296 |
| Zn                    | 0,84285  | 0,10561 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.55.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de los parámetros físico-químicos y niveles totales de metales en agua en las estaciones de la Bahía de Cádiz con transformación Logarítmica (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| VARIABLE       | W       | p       |
|----------------|---------|---------|
| Log (sol susp) | 0,85271 | 0,13009 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.56.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de los niveles totales de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As    | 1,202772      | 5  | 0,322757 | 0,825233                | 5  | 0,405311 |
| Pb    | 3,473614      | 5  | 0,121382 | 0,444676                | 5  | 0,534407 |
| Cd    | 0,015723      | 5  | 0,905101 | 0,027431                | 5  | 0,874941 |
| Cu    | 2,314814      | 5  | 0,188632 | 0,939129                | 5  | 0,377010 |
| Zn    | 0,539248      | 5  | 0,495716 | 0,052033                | 5  | 0,828598 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos  
df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.57.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Desamparados, Pte Zuazo) de los niveles totales de metales en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As    | 1,26876       | 5  | 0,311138 | 1,28331                 | 5  | 0,308665 |
| Pb    | 2,63297       | 5  | 0,165593 | 2,33356                 | 5  | 0,187147 |
| Cd    | 11,23817      | 5  | 0,020277 | 11,34154                | 5  | 0,019939 |
| Cu    | 3,04820       | 5  | 0,141265 | 2,78151                 | 5  | 0,156232 |
| Zn    | 9,80788       | 5  | 0,025906 | 9,26112                 | 5  | 0,028646 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos  
df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.58.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Desamparados, Pte Zuazo) de los niveles totales de Cd y Zn con transformación logarítmica ( $X + 1$ ) en agua en la estaciones de la Ría de Huelva (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| METAL       | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|             | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (Cd +1) | 11,00635      | 5  | 0,021064 | 11,08356                | 5  | 0,020797 |
| Log (Zn+1)  | 1,91453       | 5  | 0,225047 | 1,60318                 | 5  | 0,261238 |

**TABLA A.59.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en agua en la estaciones de la Bahía de Cádiz (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| % FRACCIÓN DISUELTA | W       | p       |
|---------------------|---------|---------|
| As                  | 0,72839 | 0,0075  |
| Pb                  | 0,96169 | 0,83313 |
| Cd                  | 0,8583  | 0,14616 |
| Cu                  | 0,9092  | 0,39038 |
| Zn                  | 0,85496 | 0,13636 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.60.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en agua en la estaciones de la Bahía de Cádiz con transformación Logarítmica ( $X + 1$ ) (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| % FRACCIÓN DISUELTA | W       | p       |
|---------------------|---------|---------|
| Log (As + 1)        | 0,81769 | 0,06101 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk



**TABLA A.61.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en la Bahía de Cádiz (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| % FRACCIÓN<br>DISUELTA | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As + 1)           | 6,266558      | 5  | 0,054270 | 4,149409                | 5  | 0,097239 |
| Pb                     | 0,000095      | 5  | 0,992619 | 0,021654                | 5  | 0,888762 |
| Cd                     | 0,038721      | 5  | 0,851750 | 0,069265                | 5  | 0,802912 |
| Cu                     | 0,023884      | 5  | 0,883225 | 0,000807                | 5  | 0,978441 |
| Zn                     | 0,373404      | 5  | 0,567865 | 0,146117                | 5  | 0,717982 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.62.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Desamparados, Pte Zuazo) de las fracciones disuelta y particulada en tanto por ciento de metales en la Bahía de Cádiz (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| % FRACCIÓN<br>DISUELTA | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|------------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                        | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| Log (As + 1)           | 5,009602      | 5  | 0,075383 | 3,762953                | 5  | 0,110094 |
| Pb                     | 2,533784      | 5  | 0,172309 | 1,889247                | 5  | 0,227693 |
| Cd                     | 3,076714      | 5  | 0,139790 | 2,171304                | 5  | 0,200604 |
| Cu                     | 0,449401      | 5  | 0,532332 | 0,406403                | 5  | 0,551845 |
| Zn                     | 1,262819      | 5  | 0,312157 | 1,283462                | 5  | 0,308640 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.63.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en agua en la estaciones de la Bahía de Cádiz (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN                           | W        | p        |
|------------------------------------|----------|----------|
| As % fracción inorgánica           | 0,97135  | 0,970799 |
| Pb% fracción lábil inorgánica      |          |          |
| Pb % fracción lábil orgánica       | 0,47802  | 0,0001   |
| Pb% fracción poco lábil inorgánica |          |          |
| Pb % fracción poco lábil orgánica  | 0,64322  | 0,00086  |
| Pb % fracción no lábil             | 0,63606  | 0,00071  |
| Cd% fracción lábil inorgánica      | 0,75984  | 0,01606  |
| Cd % fracción lábil orgánica       | 0,80348  | 0,04433  |
| Cd% fracción poco lábil inorgánica | 0,71445  | 0,00532  |
| Cd % fracción poco lábil orgánica  | 0,45297  | 0        |
| Cd % fracción no lábil             | 0,74891  | 0,01236  |
| Cu% fracción lábil inorgánica      | 0,50935  | 0,00002  |
| Cu % fracción lábil orgánica       | 0,701797 | 0,00453  |
| Cu% fracción poco lábil inorgánica | 0,45297  | 0        |
| Cu % fracción poco lábil orgánica  | 0,76354  | 0,01753  |
| Cu % fracción no lábil             | 0,77835  | 0,02485  |
| Zn% fracción lábil inorgánica      | 0,6368   | 0,00073  |
| Zn % fracción lábil orgánica       | 0,73497  | 0,00882  |
| Zn% fracción poco lábil inorgánica | 0,47764  | 0,00001  |
| Zn % fracción poco lábil orgánica  | 0,47203  | 0,00001  |
| Zn % fracción no lábil             | 0,8333   | 0,08541  |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.64.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación disuelta en tanto por ciento de metales en agua en la estaciones de la Bahía de Cádiz con transformación Logarítmica ( $x+1$ ) (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN                                     | W       | p        |
|--|---------|----------|
| Log (Pb% fracción lábil inorgánica + 1)      |         |          |
| Log (Pb % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,52098 | 0,00003  |
| Log (Pb% fracción poco lábil inorgánica + 1) |         |          |
| Log (Pb % fracción poco lábil orgánica + 1)  | 0,61978 | 0,00046  |
| Log (Pb % fracción no lábil + 1)             | 0,6375  | 0,00074  |
| Log (Cd% fracción lábil inorgánica + 1)      | 0,74007 | 0,00998  |
| Log (Cd % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,84581 | 0,11247  |
| Log (Cd% fracción poco lábil inorgánica +1)  | 0,67747 | 0,00209  |
| Log (Cd % fracción poco lábil orgánica + 1)  | 0,45297 | 0        |
| Log (Cd % fracción no lábil + 1)             | 0,71831 | 0,00585  |
| Log (Cu% fracción lábil inorgánica + 1)      | 0,59297 | 0,00022  |
| Log (Cu % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,76755 | 0,019828 |
| Log (Cu% fracción poco lábil inorgánica + 1) | 0,45297 | 0        |
| Log (Cu % fracción poco lábil orgánica +1)   | 0,72525 | 0,00695  |
| Log (Cu % fracción no lábil + 1)             | 0,78447 | 0,02866  |
| Log (Zn% fracción lábil inorgánica + 1)      | 0,72712 | 0,00727  |
| Log (Zn % fracción lábil orgánica + 1)       | 0,78434 | 0,02858  |
| Log (Zn% fracción poco lábil inorgánica + 1) | 0,61245 | 0,00038  |
| Log (Zn % fracción poco lábil orgánica + 1)  | 0,59801 | 0,00026  |
| Log (Zn % fracción no lábil + 1)             | 0,75306 | 0,001365 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.65.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de lo niveles totales de metales en sedimento de la Bahía de Cádiz (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL | W       | p       |
|-------|---------|---------|
| As    | 0,86363 | 0,16312 |
| Pb    | 0,86467 | 0,1666  |
| Cd    | 0,91913 | 0,4266  |
| Cu    | 0,87348 | 0,19904 |
| Zn    | 0,98588 | 0,98302 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.66.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de lo niveles totales de metales en sedimento de la Bahía de Cádiz (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As    | 8,606195      | 5  | 0,032496 | 8,597909                | 5  | 0,032549 |
| Pb    | 5,834930      | 5  | 0,060448 | 0,527581                | 5  | 0,500191 |
| Cd    | 0,475856      | 5  | 0,521008 | 0,026135                | 5  | 0,877901 |
| Cu    | 0,062416      | 5  | 0,812657 | 0,062584                | 5  | 0,812412 |
| Zn    | 0,037290      | 5  | 0,854475 | 0,009809                | 5  | 0,924956 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.67.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto a los puntos de muestreo (Desamparados, Pte Zuazo) de los niveles totales de metales en sedimento de la Bahía de Cádiz (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| METAL | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As    | 5,398989      | 5  | 0,067751 | 2,016707                | 5  | 0,214812 |
| Pb    | 1,435346      | 5  | 0,284581 | 0,274683                | 5  | 0,622602 |
| Cd    | 0,323420      | 5  | 0,594151 | 0,364254                | 5  | 0,572485 |
| Cu    | 0,158132      | 5  | 0,707292 | 0,003201                | 5  | 0,957071 |
| Zn    | 0,032334      | 5  | 0,864358 | 0,000054                | 5  | 0,994437 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.68.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación en tanto por ciento de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN                     | W       | p       |
|------------------------------|---------|---------|
| As % fracción intercambiable | 0,59285 | 0,00022 |
| As % fracción reducible      | 0,8619  | 0,17186 |
| As % fracción oxidable       | 0,80318 | 0,04404 |
| As % fracción residual       | 0,85029 | 0,12364 |
| Pb % fracción intercambiable | 0,83419 | 0,08765 |
| Pb % fracción reducible      | 0,72578 | 0,00704 |
| Pb % fracción oxidable       | 0,90122 | 0,33841 |
| Pb % fracción residual       | 0,94519 | 0,68579 |
| Cd % fracción intercambiable | 0,92057 | 0,47380 |
| Cd % fracción reducible      | 0,80875 | 0,04994 |
| Cd % fracción oxidable       | 0,92698 | 0,52551 |
| Cd % fracción residual       | 0,73792 | 0,00947 |
| Cu % fracción intercambiable | 0,45297 | 0,0000  |
| Cu % fracción reducible      | 0,45297 | 0,0000  |
| Cu % fracción oxidable       | 0,74441 | 0,01109 |
| Cu % fracción residual       | 0,79371 | 0,03548 |
| Zn % fracción intercambiable | 0,84645 | 0,11403 |
| Zn % fracción reducible      | 0,89404 | 0,29643 |
| Zn % fracción oxidable       | 0,88438 | 0,24661 |
| Zn % fracción residual       | 0,96507 | 0,86091 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.69.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de las fracciones de especiación en tanto por ciento de metales en sedimento de la Ría de Huelva (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN              | W        | p       |
|-----------------------|----------|---------|
| Log (As % interc + 1) | 0,80356  | 0,04441 |
| Log (As % ox + 1)     | 0,90919  | 0,39031 |
| Log (Pb red + 1))     | 0,78086  | 0,02635 |
| Log (Cd % red + 1)    | 0,92603  | 0,51767 |
| Log (Cu % interc + 1) | 0,45297  | 0,00000 |
| Log (Cu red + 1)      | 0,45297  | 0,00000 |
| Log (Cu % ox + 1)     | 0,565666 | 0,00011 |
| Log (Cu residuo + 1)  | 0,85201  | 0,12821 |

W- coeficiente de Shapiro-Wilk

**TABLA A.70.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Bahía de la Cádiz (grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| FRACCIÓN              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As % red              | 3,945418      | 5  | 0,103738 | 2,330130                | 5  | 0,187418 |
| As % residuo          | 3,857503      | 5  | 0,106733 | 0,482594                | 5  | 0,518201 |
| Pb % interc           | 0,407840      | 5  | 0,551169 | 0,141208                | 5  | 0,722498 |
| Pb % ox               | 3,284559      | 5  | 0,129682 | 0,674887                | 5  | 0,448737 |
| Pb % residuo          | 0,000674      | 5  | 0,980296 | 0,000583                | 5  | 0,981675 |
| Cd % interc           | 0,014650      | 5  | 0,908376 | 0,013626                | 5  | 0,911616 |
| Log (Cd red +1)       | 3,349837      | 5  | 0,126726 | 3,174042                | 5  | 0,134919 |
| Cd % ox               | 2,460440      | 5  | 0,177536 | 2,349346                | 5  | 0,185910 |
| Cd % residuo          | 1,576587      | 5  | 0,264734 | 0,167962                | 5  | 0,698898 |
| Log (Cu % residuo +1) | 3,318283      | 5  | 0,128143 | 0,263452                | 5  | 0,629625 |
| Fe % interc           | 0,651443      | 5  | 0,456259 | 0,056868                | 5  | 0,820982 |
| Fe % red              | 0,162116      | 5  | 0,703853 | 0,272972                | 5  | 0,623659 |
| Fe % ox               | 5,010575      | 5  | 0,075363 | 2,798552                | 5  | 0,155208 |
| Fe % residuo          | 4,267402      | 5  | 0,093743 | 0,896848                | 5  | 0,387115 |
| Zn % interc           | 0,348351      | 5  | 0,580712 | 0,000950                | 5  | 0,976604 |
| Zn % red              | 0,055574      | 5  | 0,822986 | 0,000237                | 5  | 0,988309 |
| Zn % ox               | 1,438028      | 5  | 0,284183 | 1,046285                | 5  | 0,353279 |
| Zn % residuo          | 0,876084      | 5  | 0,392245 | 0,796204                | 5  | 0,413109 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos



**TABLA A.71.** Pruebas de homogeneidad de las varianzas de Levene y de Brown & Forsythe respecto al muestreo (otoño, primavera) de las fracciones de especiación en tanto por ciento en sedimento de la Bahía de la Cádiz ((grado de significación para la homogeneidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| FRACCIÓN              | Prueba Levene |    |          | Prueba Brown & Forsythe |    |          |
|-----------------------|---------------|----|----------|-------------------------|----|----------|
|                       | F(1,df)       | df | p        | F(1,df)                 | df | p        |
| As % red              | 0,93597       | 5  | 0,377750 | 0,00035                 | 5  | 0,985750 |
| As % residuo          | 4,05078       | 5  | 0,100306 | 2,84350                 | 5  | 0,152554 |
| Pb % interc           | 6,64481       | 5  | 0,049567 | 4,58785                 | 5  | 0,085110 |
| Pb % ox               | 4,02359       | 5  | 0,101176 | 0,09242                 | 5  | 0,773371 |
| Pb % residuo          | 0,39898       | 5  | 0,555367 | 0,11928                 | 5  | 0,743876 |
| Cd % interc           | 0,39457       | 5  | 0,557480 | 0,55157                 | 5  | 0,491073 |
| Log (Cd red +1)       | 6,46268       | 5  | 0,051756 | 1,96965                 | 5  | 0,219437 |
| Cd % ox               | 7,30364       | 5  | 0,042655 | 2,56246                 | 5  | 0,170326 |
| Cd % residuo          | 1,39614       | 5  | 0,290503 | 0,10776                 | 5  | 0,756005 |
| Log (Cu % residuo +1) | 8,30191       | 5  | 0,034535 | 1,51816                 | 5  | 0,272676 |
| Fe % interc           | 0,13623       | 5  | 0,727170 | 0,23927                 | 5  | 0,645436 |
| Fe % red              | 1,19101       | 5  | 0,324901 | 0,82644                 | 5  | 0,404993 |
| Fe % ox               | 0,02001       | 5  | 0,893022 | 0,03793                 | 5  | 0,853259 |
| Fe % residuo          | 0,00462       | 5  | 0,948418 | 0,00418                 | 5  | 0,950957 |
| Zn % interc           | 1,08073       | 5  | 0,346168 | 1,02899                 | 5  | 0,356939 |
| Zn % red              | 30,89627      | 5  | 0,002592 | 24,48651                | 5  | 0,004291 |
| Zn % ox               | 6,59057       | 5  | 0,050205 | 0,60791                 | 5  | 0,470853 |
| Zn % residuo          | 0,74349       | 5  | 0,427955 | 0,16269                 | 5  | 0,703362 |

F(k-1,df)- Estadístico F; k- número de grupos

df=(N-K)- grado de libertad; N- número de casos

**TABLA A.72.** Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de los niveles de metales en peces de la Bahía de Cádiz (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| METAL | D       | p     |
|-------|---------|-------|
| As    | 0,24333 | <0,01 |
| Pb    | 0,31772 | <0,01 |
| Cd    | 0,42029 | <0,01 |
| Cu    | 0,37252 | <0,01 |
| Zn    | 0,21725 | <0,01 |

D- estadístico

**TABLA A.73.** Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de los niveles de metales en peces de la Bahía de Cádiz con transformación Logarítmica ( $X + 1$ ) (para  $p>0,05$  se acepta la hipótesis de distribución normal).

| METAL        | D       | p     |
|--------------|---------|-------|
| Log (As + 1) | 0,10203 | <0,05 |
| Log (Pb + 1) | 0,24277 | <0,01 |
| Log (Cd + 1) | 0,36832 | <0,01 |
| Log (Cu + 1) | 0,23810 | <0,01 |
| Log (Zn + 1) | 0,13946 | <0,01 |

D- estadístico

#### A.4.1.3. PRUEBAS PARA EL FACTOR DE CONDICIÓN DE PECES

**TABLA A.74.** Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov del factor de condición de los peces en este estudio (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p>0,05$ ).

| VARIABLE            | D       | p      |
|---------------------|---------|--------|
| Factor de condición | 0,10632 | < 0,01 |

D- estadístico

**TABLA A. 75.** Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov del factor de condición de los peces en este estudio con transformación Logarítmica (grado de significación para la normalidad de la distribución:  $p > 0,05$ ).

| VARIABLE                  | D       | p      |
|---------------------------|---------|--------|
| Log (Factor de condición) | 0,11749 | < 0,01 |

D- estadístico



## BIBLIOGRAFÍA



- Abdullah, M.I., El-Rayis, O.A., Riley, J.P., **1976**. Re-assessment of chelating ion-exchange resins for trace metal analysis of sea water. *Anal. Chim. Acta*, 84, 363-368
- Abollino, O., Aceto, M., Sarzanini, C., Mentasti, E., **2000**. The retention of metal species by different solid sorbents. Mechanisms for heavy metal sepciation by sequential three column uptake. *Anal. Chim. Acta*, 411, 223-237
- Adriano, D.C., **2001**. Trace elements in terrestrial environments. *Springer*, New York
- Allen, H.E., **2000**. Importance of clean techniques and speciation in assessing waters quality for metals. *Hum. Ecol. Risk. Asses.*, 6 (6), 989-1002.
- Álvarez, O., Izquierdo, A., Tejedor, B., Mañanes, R., Tejedor, L., Kagan, B.A., **1999**. The influence of sediment load on tidal dynamics, a case study: Cádiz Bay. *Est. Coast Shelf Sci.* 48, 439-450
- Amaya, J.L., Pacheco, P.D., **2002**. Análisis factorial dinámico mediante el método Tucker3. *Revista Colombiana de Estadística*, 25, 43-57
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Metayer, C., Ferré, R., **1983**. Etude du transfert de quelques Oligo-éléments métalliques entre le milieu sédimentaire estuarien et les poissons plat "Mangeurs de sédiments". *Mar. Environ. Res.*, 10, 159-171
- Apostoli, P., Cornelis, R., Duffus, J., Lison, D., Templeton, D., **2006**. Elemental speciation in human health risk assessment, Environmental health criteria 234. Ed. *World Health Organization*. I.S.B.N.: 92 4 127232 5
- Apte, S.C., Batley, G., Maher, W.A., **2002**. Environmental monitoring handbook. Chapter 6: Monitoring of trace metals and metalloids in natural waters. Ed. *McGraw-Hill*, NY, USA
- Arain, M.B., Kazi, T.G., Jamali, M.K., Afridi, H.J., Jalbani, N., Sarfraz, R.A., Baig, J.A., Kandhro, G.A., Memon, M.A., **2008a**. Time saving modified BCR sequential extraction procedure for the freaction of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in sediment samples of polluted lake. *J. Hazard. Mater.*, 160, 235-239
- Arain, M.B., Kazi, T.G., Jamali, M., Jalbani, N., Afridi, H.I., Baig, J.A., **2008b**. Speciation of heavy metals in sediment by conventional, ultrasound and microwave assisted single extraction methods: A comparison with modified sequential extraction procedure. *J. Hazard. Mater.*, 154, 998-1006
- Arellano, J.M., Sarasquete, C., **2005**. Atlas histológico del lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). Ed. *Consejo superior de investigaciones científica*, España, I.S.B.N.:84-00-08389-X
- Armendáriz Sáenz, N.I., Aquino Terrazas, M.T., Romero Ortiz, L., Sánchez Villavicencio, M.L., Sobrino Figueroa, A.S., Miranda Arce, M.G., **2008**. Evaluación de los parámetros bioquímicos en tres macrofitas acuáticas expuestas a cobre. *Polibotánica*, 26, 149-158
- Artolachipi Acero, A., Calvo Cubero, J., **2006**. El litoral de la provincia de Cádiz. Manual para el profesor. Ed. Junta de Andalucía – Consejería de Medio Ambiente, Sevilla
- Astel, A., Tsakovshi, S., Simeonov, V., Reisenhofer, E., Piselli, S., Barbieri, P., **2008**. Multivariate classification and modeling in surface water pollution estimation. *Anal. Bional. Chem.*, 390, 1283-1292

- Aucoin, J., Blanchard, R., Billiot, C., Partridge, C., Shultz, D., Mandhare, K., Beck, M.J., Beck, J.N., **1999**. Trace Metals in fish and sediments from Lake Boeuf Southeastern Lousiana. *Microchem J.*, 62, 299-307
- Azcue, J.M., **1993**. Metales en el medio Ambiente. *Ed. PPU*, Barcelona
- Baatrup, E., **1991**. Structural and functional effects of heavy metals of the nervous systme, including sense organs, of fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100c, 253-257
- Bad Perired, C., **2004**. El Mar Mediterráneo: Recursos Vivos y Explotación. *Ed. Ariel*, España
- Baeyens, W., Elskens, M., Gillain, G., Goeyens, L., **1998**. Biogeochemical behaviour of Cd, Cu, Pb and Zn in the Scheldt estuary during the period 1981-1983. *Hydrobiología*, 366, 15-44
- Baeyens, W., Montey, F., Leermakers, M., Bouillon, **2003**. Evaluation of sequential extractions on dry and wet sediments. *Anl. Bioanal. Chem.*, 376, 890-901
- Baird, C., **2001**. Environmental chemistry. *Ed. W.H. Freeman*, 2<sup>nd</sup> ed., New York
- Barbieri, P., Andersson, C.A., Massart, D.L., Predonzani, S., Adami, G., Reisenhofer, E., **1999**. Modeling bio-geochemical interactions in the surface waters of the gulf of Trieste by Three-way component analysis (PCA). *Anal. Chim. Acta*, 398, 227-235
- Batley, G.E., **1987**. Speciation of heavy metals in water, sediments and biota of the Macquerie lake. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 38, 591-606
- Batley, G.E., Florence, T.M., **1976a**. Determination of the chemical forms of dissolved cadmium, lead and copper in seawater. *Mar. Chem.*, 4, 347-363
- Batley, G.E., Florence, T.M., **1976b**. A novel scheme for the classification of heavy metal species in natural waters. *Anal. Lett.*, 9 (4), 379-388
- Bayer, M.E., Boond, A.M., Mc Laughlin, R.J.M., **1975**. Simultaneous polarographic determination of ferrous, ferric, and total iron in standard rocks. *Anal. Chem.*, 47 (3), 479-482
- Bears, H., Richards, J.G., Shulte, P.M., **2006**. Arsenic exposure alters hepatic arsenic species composition and stress-mediated gene expression in the common killifish. *Aquat. Toxicol.*, 77, 257-266
- Beccaloni, E., Musmeci, L., Spaziani, R., Stacul, E., **2004**. Sequential extraction of heavy metals from polluted marine sediments, *Proceedings of the International Conference on Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds*, 4<sup>th</sup>, Monterrey, CA, United States, May 24-27, 4D.03/1-4D.03/8
- Bervoets, L., Blust, R., **2003**. Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient:: relationship with fish condition factor. *Environ. Pollut.*, 126, 9-19
- Bissen, M., Frimmel, F.H., **2003**. Arsenic- a review. Part I: Ocurrence, toxicity, speciation, Mobility. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 31, 9-18
- Blain, S., Appriou, P., Andel, H., **1993**. Preconcentration of trace metals from sea water with the chelating resin Chelamine. *Anal. Chim. Acta*, 272, 91-97
- Blasco, J., Sáenz, V., Gómez-Parra, A., **2000**. Heavy metal fluxes at the sediment-water interface of three coastal ecosystems from south-west of the iberian Peninsula. *Sci. Total Environ.*, 27, 189-199



- Bervoets, L., Panis, L.I., Verheyen, R., **1994**. Trace metal levels in water, sediments and chironomus gr. Thummi, from different water courses in Flanders (Belgium). *Chemosphere*, 29, 1591-1601
- Boletín hidrológico, MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE  
<http://servicios2.mma.es/wlbolehl/>
- Boletín oficial de la Junta de Andalucía, BOJA num. 27, **1997**. Orden de 14 febrero de 1997, por la que se clasifican las aguas afectadas directamente por vertidos, en desarrollo del decreto 14/1996, de 16 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de calidad de aguas litorales. Pp. 2591-2598
- Boletín oficial de la Junta de Andalucía, BOJA num. 71, **2004**. Decreto 79/2004 de 24 de febrero de 2004, por el que se aprueban el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales y el Plan Rector de Uso y Gestión del Parque Natural Bahía de Cádiz
- Borrego, J., López-González, N., Carro, B., Lozano-Soria, O., **2004**. Origino of the anomalies in Light and middle REE in sediments of an estuary affected by phosphogypsum waste (south-western Spain). *Mar. Pollut. Bull.*, 49, 1045-1053
- Botté, S.E., Hugo Freije, R., Marcovecchio, J.E. **2007**. Dissolved heavy metal (Cd, Pb, Cr, Ni) concentrations in surface water and porewater from bahía Blanca Estuary Tidal Flats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 79, 415-421
- Boulter, C.A., **1993**. Comparison of Rio Tinto, Spain, and Guaymas Basin, Gulf of California: An explanation of a supergiant massive sulfide deposit in an ancient sill-sediment complex. *Geology*, 21, 801-804
- Bradl, H.B., **2005**. Heavy Metals in the environment. Chapter 1: Sources and origins of heavy metals. *Ed. H.B. Bradl*
- Bradl, H.B, Kim, C., Kramar, U., Stüben, D., **2005**. Heavy Metals in the environment. Chapter 2: Interactions of heavy metals. *Ed. H.B. Bradl*
- Braungardt, C.B., Achterberg, E.P., Elbaz-Poulichet, F., Morley, N.H., **2003**. Metal geochemistry in a mine-polluted estuarine system in Spain. *Appl. Geochem.*, 18, 1757-1771
- Brayner, F.M.M., Philippini-Da Silva, H.K., Barbosa, A.N.D.F., **2001**. Speciation of heavy metals in estuarine sediments in the northeast of Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 8, 269-274
- Bricker, O.P., Jones, B.F., **1995**. Main factors affecting the composition of natural waters. In trace elements in natural water. Eds. *B. Salbu and E. Steinnes*. CRC Press, Boca Raton
- Bruland, K.W., **1983**. Trace elements in seawater, en *Chemical Oceanography*. *Ed. J.P. Riley, R. Chester London: Academic Press*
- Brügmann, L., Hallberg, R., Larsson, C., **1998**. Trace metal speciation in sea and pore water of the Gotland Deep, Baltic Sea, 1994. *Appl. Geochem.*, 13, 359-368
- Bryan, G.W., **1976**. Heavy metal contamination in the sea, en *Marine Pollution*. *Ed. R. Jonhston London (England): Academic Press*
- Bubb, J.M., Lester, J.N., **1991**. The impact of heavy metals on lowland rivers and the implications for man and the environment. *Sci. Total Environ.*, 100, 207-233
- Buffle, J., Tercier-Waeber, M.L., **2005**. Voltametric environmental trace metal analysis and speciation: from laboratory to in situ measurements. *Trends Anal. Chem.*, 24 (3), 172-191

- Butler, E.C.V., **2006**. The tail of two rivers in Tasmania: The derwent and Huon estuaries. *Hdb. Env. Chem.*, vol.5, Part H, 1-49
- Caccia, V.G., Millero, F.J., **2003**. The distribution and seasonal variation of dissolved trace metals in Florida Bay and adjacent waters. *Aquat. Geochem.*, 9, 111-144.
- Calace, N., Petronio, B.M., Pietroletti, M., **2006**. Metal bioavailability: how does its significance change in the time. *Ann. Chim-Rome*, 96
- Calderer Reig, A., **2007**. Influencia de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento y consumo de oxígeno de la dorada (*Sparus aurata* L.). *Ed. Universidad de Barcelona-Facultad de Biología*
- California environmental Protection Agency: State Water Resources Control Board Water Quality: State Mussel Watch Program 1995-97 data report. Appendix V  
<http://www.swrcb.ca.gov/programs/smw/smw9597.html>
- Canadian Council of Minister of the environment, **2001**. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Summary tables. ISBN 1-896997-34-1
- Canli, M., Atli, M., **2003**. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.*, 121, 129-136
- Cánovas, C.R., Olías, M., Nieto, J.M., Sarmiento, A.M., Cerón, J.C., **2007**. Hydrochemical characteristics of the Tinto and Odiel Rivers (SW Spain). Factor controlling metal contents. *Sci. Total Environ.*, 373, 363-382
- Cappuyns, V., Swennen, R., Niclaes, M., **2007**. Application of the BCR sequential extraction scheme to dredged pond sediments contaminated by Pb-Zn mining: A combined geochemical and mineralogical approach. *J. Geochem. Explor.*, 93, 78-90
- Cappuyns, V., Swennen, R., **2008**. "Acid extractable" metal concentrations in solid matrices: A comparison and evaluation of operationally defined extraction procedures and leaching test. *Talanta*, 75, 1338-1347
- Carman, C.M.I., Xian-Dong, L., Gan Zhang, Onyx, W.H.W., Yok-Sheung L., **2007**. Trace metal distribution in sediments of the Pearl River Estuary and the surrounding coastal area, South China. *Environ. Pollut.*, 147, 311-323
- Carrasco, M., López-Rámirez, J.A., Benavente, J., López-Aguayo, F., Sales, D., **2003**. Assessment of urban and industrial contamination levels in the bay of Cádiz, SW Spain. *Mar. Pollut. Bull.*, 46, 335-345
- Carusso, J.A., Klaue, B., Michalke, B., Rocke, D.M., **2003**. Group assessment: elemental speciation. *Ecotox. Environ. Safe.*, 56, 32-44
- Castañé, P.M., Topalián, M.L., Cordero, R.R., Salibián, A., **2003**. Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad. *Rev. Toxicol.*, 20, 13-18
- Caussy, D., Gochfeld, M., Gurzau, E., Neagu, C., Ruedel, H., **2003**. Lessons from case Studies of metals: investigating exposure, bioavailability, and risk. *Ecotox. Environ. Safe.*, 56, 45-51
- Censi, P., Spoto, S.E., Saiano, F., Sprovieri, M., Mazzola, S., Nardone, G., Di Geronimo, S.I., Punturo, R., Ottonello, D., **2006**. Heavy metals in coastal water Systems. A case study from the northwest gulf of Thailand. *Chemosphere*, 64, 1167-1176

- Cerón, J.C., Borrego, J., Morales, J.A., **2000**. Sobre la contaminación de las aguas del estuario de los ríos Tinto y Odiel (Huelva). *Geogaceta*, 27, 39-42
- Cesar, A., Choueri, R.B, Riba, I., Morales-Caselles, Pereira, C.D.S., Santos, A.R., Abessa, D.R.M., Del Valls, T.A., **2007**. Comparative sediment quality assesment in different litoral ecosystems from Spain (Gulf of Cádiz) and Brazil (Santos and Sao Vicente estuarine system). *Environ. Int.*, 33, 429-435
- Chakrabarti, C.L., Lu, Y., Cheng, J., **1993**. Studies on metal speciation in the natural environment. *Anal. Chim. Acta*, 267, 47-64
- Chang, L.W, **1996**. Toxicology of metals. CRC, Boca Ratón, Florida, USA
- Chaudhuri, A., Mitra, M., Havrilla, C.,Waguespack, Y., Schwarz, J., **2007**. Heavy metal biomonitoring by seaweeds on the Delmarva Peninsula, east coast of the USA. *Bot. Mar.*, 50, 151-158
- Chen, X., Ma, J., Huang, Z., Han, S., **1998**. Element speciation by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma-atomic emission spectrometric detection. *Yankuang Ceshi*, 17(1), 51-57
- Chiffolleau, J.F., Cossa, D., Auger, D., Truquet, I., **1994**. Trace metal distribution and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge regime. *Mar. Chem.*, 47, 145-158
- Chun-Gang, Y., et al., **2004**. Speciation of heavy metals in marine sediments from the East China sea by ICP-MS with sequential extraction. *Environ. Int.*, 30(6), 769-783
- Ciceri, E., Giussani, B., Pozzi, A., Dossi. C., Recchia, S., **2008**. Problems in the application of the three-steps BCR sequential extraction to low amounts of sediments: an alternative validated route. *Talanta*, 76, 621-626
- Cobelo-García, A., Prego, R., Labandeira, A., **2004a**. Land inputs of trace metals, major elements, particulate organic carbon and suspended solids to an industrial coastal bay of the NE Atlantic. *Water Res.*, 38, 1753-1764
- Cobelo-García, A., Prego, R., **2004b**. Influence of point sources on trace metal contamination and distribution in a semi-enclosed industrial embayment: the Ferrol Ria (NW Spain). *Estuar. Coast shelf S.*, 60, 695-703
- Cobelo-García, A., Millward, G.E., Prego, R., Lukashin, **2006**. Metal concentrations in Kandalaksha Bay, White Sea (Russia) following the spring snowmelt. *Environ. Pollut.*, 143, 89-99
- Çogun, H, Yüzereroglu, T.A., Kargin, F., Firat, O., **2005**. Seasonal variation and tissue distribution of heavy metals in shrimp and fish species from the Yumurtalik coast of Iskenderun gulf, Mediterranean. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 75, 707-715
- Coleman, D.C., Voades, J.M., Uehara, G., 1989. Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems. *Ed. University of Hawaii Press*, Honolulu
- Coll, J., **1991**. Acuicultura Marina Animal. *Ed. Mundi-Prensa*, Madrid
- Consejería de Medio Ambiente: Junta de Andalucía. Medio ambiente en Andalucía informe **2006**
- Consejería de Medio Ambiente: Junta de Andalucía: los tipos climáticos en Andalucía  
<http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/site/web/>
- Cook, S.R., Parker, A., **2006**. Sequential extraction and single-step cold-acid extraction: A feasibility study for use with freshwater-canal sediments. *Water Air Soil Pollut.*, 170 (1-4) 95-105

- Cornelis, R., Nordberg, R., **2007**. Handbook on the toxicology of metal, 3 edition. Chapter 2: General chemistry, sampling, analytical methods, and speciation. *Academy Press, Inc*
- Coung, D.T., Obbard J.P., **2006**. Metal speciation in coastal marine sediments from Singapore using a modified BCR-sequential extraction procedure. *Appl. Geochem.*, 21(8), 1335-1346
- Coz, A., Rdríguez-Obeso, O., Alonso-Santurde, R., Álvarez-Guerra, M., Andrés, A., Viguri, J.R., Mantzavinos, D., Kalogerakis, N., **2008**. Toxicity bioassays in core sediments from the Bay of Santander northern Spain. *Environ. Res.*, 106, 304-312.
- Craba, L., Brunori, C., Galletti, M., Cremisisni, C., Morabito, R., **2004**. Comparison of three sequential extraction procedures (original and modified 3 steps BCR procedure) applied to sediments of different origin. *Ann. Chim-Rome*, 94(5-6), 409-419
- Crompton, T.R., **1997**. Toxicants in aqueous ecosystems. *John Wiley & Sons, Chichester (England)*
- Cullen, W.R., Reimer, K.J., **1989**. Arsenic speciation in the environment. *Chem. Rev.*, 89, 713-764
- Daesslé, L.W., Camacho-Ibar, V.F., Carriquiry, J.D., Ortiz-Hernández, M.C., **2004**. The geochemistry and sources of metals and phosphorus in the recent sediments from the Northern Gulf of California. *Cont. Shelf Res.*, 24, 2093-2106
- Dai, M.H., Martin, J.M., **1995**. First data on trace metal level and behaviour in two major Arctic river-estuarine systems (Ob and Yenisey) and in the adjacent Kara Sea, Russia. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 131, 127-141
- Datta, S., Ghosh, D., Saha, D.R., Bhattacharaya, S., Mazumder, S., **2009**. Chronic exposure to low concentration of arsenic is immunotoxic to fish: Role of head kidney macrophages as biomarkers of arsenic toxicity to *Clarias batrachus*. *Aquat. Toxicol.*, 92, 86-94
- Davidson, M.C., Lorna, E.W., Ure, A.M., **1999**. Effect of sample preparation on the operational speciation of cadmium and lead in freshwater sediment. *Fresen. J. Anal. Chem.*, 363, 134-136
- Davidson, C.M., et al., **2004**. Should acid ammonium oxalate replace hydroxylammonium chloride in step 2 of the revised BCR sequential extraction protocol for soil and sediment. *Anal. Chim. Acta*, 508(2), 193-199
- de Campos, R.C., Grinberg, P., **2001**. Gas chromatography coupled with atomic absorption spectrometry in studies of speciation: a review. *Quimica Nova*, 24(2), 220-227
- de la Guardia, M., Cervera, M., **1999**. Speciation studies by atomic spectroscopy. *Adv. Atom. Spectrosc.*, 5, 1-98
- de Marco, R., Graeme, C., Pejčić, B., **1987**. Ion-selective electrode potentiometry in environmental analysis. *Electroanal.*, 19, 1987-2001
- de Mora, S.J., Harrison, R.M., **1983**. The use of physical separation techniques in trace metal speciation studies. *Water Res.*, 17 (7), 723-733
- Del Valls, T.A., Chapman, P.M., **1998**. Site-specific sediment quality values for the Gulf of Cádiz (Spain) and San Francisco Bay (USA), using the sediment quality triad and multivariate analysis. *Cienc. Mar.*, 24, 313-336
- Demirak, A., Yilmaz, F., Levent Tuna, A., Ozdemir, N., **2006**. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere*, 63, 1451-1458

- DesGranges, J.L., Rodrigue, J., Tardif, B., Laperle, M., **1998**. Mercury accumulation and biomagnification in ospreys (*Pandion haliaetus*) in the James Bay and Hudson Bay Regions of Québec. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35, 330-341
- Deviller, G., Palluel, O., Aliaume, C., Asanthi, H., Sanchez, W., Franco-Nava, M.A., Blacheton, J.P., Casellas, C., **2005**. Impact assessment of various rearing Systems on fish Elath using multibiomarker response and metal accumulation. *Ecotox. Environ. Safe.*, 61, 89-97
- Doong, R.A., Lee, S.H., Lee, C.C., Sun, Y.C., Wu, S.C., **2008**. Characterization and composition of heavy metals and persistent organic pollutants in water and estuarine sediments from Gao-ping River, Taiwan. *Mar. Pollut. Bull.*, 57, 846-857
- Duinker, J.C., Kramer, C.J.M., **1977**. An experimental study on the speciation of dissolved zinc, cadmium, lead and copper in river Rhine and North sea water, by differential pulsed anodic stripping voltammetry. *Mar. Chem.*, 5 (3), 207-228
- Dupré, B., Viers, J., Dandurand, J.L., Polve, M., Bénézech, P., Vervier, P., Braun, J.J., **1999**. Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: ultrafiltration of natural and spiked solutions. *Chem. Geol.*, 160, 63-80
- Dural, M., Lugal Göksu, M.Z., Akif-Özak, A., **2006**. Bioaccumulation of some heavy in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L, 1758, *Spaurus aurata* L, 1758 and *Mugil cepahlus* L, 1758 from the Çamlık lagoon of the eastern cost of Mediterranean (Turkey). *Environ. Monit. Assess.*, 118, 65-74
- Dural, M., Lugal Göksu, M.Z., Akif-Özak, A., **2007**. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chem.*, 102, 415-421
- Ebdon, L., Hill, S., Ward, R.W., **1986**. Directly coupled chromatography - atomic spectroscopy. Part 1. Directly coupled gas chromatography - atomic spectroscopy. A review. *Analyst*, 111, 10, 1113-1138
- Ebdon, L., Hill, S., Ward, R.W., **1987**. Directly coupled chromatography - atomic spectroscopy. Part 2. Directly coupled liquid chromatography - atomic spectroscopy. A review. *Analyst*, 112, 1, 1-16
- Ebdon, L., Hill, S., **1988**. Combined high performance liquid chromatography - atomic spectroscopy for trace metal speciation. *Anal. Appl. Spectrosc.*, [Proc. Int. Conf.], Meeting Date 1987, 355-366
- [ec.europa.eu/environment](http://ec.europa.eu/environment)
- [http://ec.europa.eu/environment/legal/links\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/legal/links_en.htm)
- Elass, K., Laachach, A., Azzi, M., **2004**. Three-stage sequential extraction procedure for metal partitioning in polluted soils and sediments, *Ann. Chim-Rome*, 94(4), 325-332
- Elbaz-Poulichet, F., Morley, N.H., Cruzado, A., Velásquez, Z., Achterberg, E.P., Braungardt, C.B., **1999**. Trace metal and nutrient distribution in an extremely low pH (2.5) river-estuarine system, the Ria of Huelva (South-West Spain). *Sci. Total Environ.*, 27, 73-83
- EPA, **July 2005**. Toxicological review of zinc and compounds. *Ed. U.S. Environmental Protection Agency*, Washington D.C., EPA/635/R-05/002
- Essien, J.P., Benson, N.U., Antai, S.P., **2007**. Seasonal dynamics of physicochemical properties and heavy burdens in Mangrove sediments and surface water of the brackish Qua Iboe Estuary, Nigeria. *Toxicol. Environ. Chem.*, 90, 259-273

- Ettler, V., Mihaljevic, M., Sebek, O., Grygar, T., **2007**. Assessment of single extractions for the determination of mobile forms of metals in highly polluted soils and sediments – Analytical and thermodynamic approaches. *Anal. Chim. Acta*, 602, 131-140
- FAO, Departamento de pesca y acuicultura  
[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus\\_aurata\\_es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata_es)
- Feldhaus, R., Buscher, W., Kleine-Benne, E., Quevauviller, P., **2002**. Development of a new automates speciation analyser-result of an international interdisciplinary co-operation between scientific and industrial partners. *Trends Anal. Chem.*, 21 (5), 356-365
- Fernández Caliani, J.C., Ruiz Munoz, F., Galán E., **1997**. Clay mineral and heavy metal distributions in the lower estuary of Huelva and adjacent Atlantic shelf, SW Spain. *Sci. Total Environ.*, 198, 181-200
- Fernández, J.A., Carballeira, A., **2001**. A comparison of indigenous mosses and topsoils for use in monitoring atmospheric heavy metal deposition in Galicia (NW Spain). *Environ. Pollut.*, 114 (3), 431-441
- Fernandez-Turiel, J.L., Llorens-Benito, J.F., López-Soler, A., Cabañas-Albero, M., Querol-Carceller, X., **1995**. La calidad de las aguas continentales españolas. Estado actual e investigación: Problemática de los metales pesados en aguas continentales naturales y recicladas. *Ed. M. Alvarez Cobelas y F. Cabrera Capitán*, 307 pp.
- Ferrer, A., **2003**. Intoxicación por metales. *Anales Sis. San. Navarra*, 26, 141-153
- Fianko, J.R., Osa, S., Adomako, D., Adotey, D.K., Serfor-Armah, Y., **2007**. Assessment of heavy metal pollution of the Iture Estuary in the central region of Ghana. *Environ. Monit. Assess.*, 131, 467-473
- Figura, P., McDuffie, B., **1980**. Determination of labilities of soluble trace metal species in aqueous environmental samples by anodic stripping voltametry and chelex column and batch methods. *Anal. Chem.*, 52, 1433-1439
- Filella, M., Town, R.M., Buffle, J., **2002**. Chemical Speciation in the environment, 2 edition. Chapter 8: Speciation in freshwaters. *Ed. Blackwell Science Ltd*
- Filgueiras, A.V., Lavilla, I., Bendicho, C., **2002**. Comparison of the standard SM&T sequential extraction method with small-scale ultrasound-assisted single extractions for metal partitioning in sediments. *Anal. Bioanal. Chem.*, 374(1), 103-110
- Fischer, J.C., Nganou, R., Wartel, M., **1984**. Etude de la capacité complexante des eaux de l'estuaire et de la baie de Seine. *Talanta*, 1057-1061
- Flemming, C.A., Trevors, J.T., **1989**. Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water Air Soil Poll.*, 44, 143-158.
- Florence, T.M., **1982**. The speciation of trace elements in waters. *Talanta*, 29, 345-364
- Förstner, U., Wittmann, G.T.W., **1983**. Metal pollution in the aquatic environment. *Second revised edition*, Springer-Verlag, Berlin
- Förstner, U., **2004**. Traceability of sediment analysis. *Trends Anal. Chem.*, 23(3), 217-236
- Frimmel, F.H., Gremm T., **1994**. The importance of element speciation water analysis - a plea for further investigations. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 350, 7-13

- França, S., Vinagre, C., Caçador, I., Cabral, H.N., **2005**. Heavy metal concentrations in sediment, benthic invertebrates and fish in three salt marsh areas subjected to different pollution loads in the Tagus Estuary (Portugal). *Mar. Pollut. Bull.*, 50, 993-1018
- Furness, W.R., Rainbow, P.S., **1990**. Heavy metals in the marine environment. *Ed. CRC Pres, Inc.*, Florida.
- Gabriel Pendón, J., Morales, J.A., **1997**. Facies deposicionales Holocenas de la Costa de Huelva: propuesta de nomenclatura para litofacies estuarinas. *Cuadernos de Geología Ibérica*, 22, 165-190
- Gadd, G.M., Griffiths, A.J., **1978**. Microorganisms and heavy metal toxicity. *Microbial Ecology*, 4 (4), 303-317
- Galán, E., Gómez-Ariza, J.L., González, I., Fernández-Caliani, J.C., Morales, E., Giradles, I. **2003**. Heavy metal partitioning in river sediments severely polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt. *Appl. Geochem.*, 18, 409 – 421.
- Gardner, W.S., Landrum, P.F., Yates, D.A., **1982**. Fractionation of metal forms in natural waters by size exclusion chromatography with Inductively coupled argon plasma detection. *Anal. Chem.*, 54, 1196-1198
- George, M.D., **1988**. Distribution of labile & non-labile forms of Cd, Pb & Cu in Lakshadweep Lagoon waters. *Indian J. Mar. Sci.*, 17, 111-113
- Gismera, M.J., Lacal, J., da Silva, P., García, R., Sevilla, M.T., Procopio, J.R., **2004**. Study of metal fractionation in river sediments. A comparison between kinetic and sequential extraction procedures. *Environ. Pollut.*, 127, 175-182
- Giusti, L., **1999**. Biologically available trace metals in *Mytilus edulis* from the coast of northeast England. *Environ. Int.*, 25, 969-981
- Gladyshev, M.I., gribovskaya, I.V., Moskvicheva, A.V., Muchkina, E.Y., Chuprov, S.M., Ivanova, E.A., **2001**. Content of metals in compartments of ecosystem of a siberian pond. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41, 157-162
- Gobler, C.J., Donat, J.R., Consolvo, J.A., **2002**. Sañudo-Wilhelmy, S.A., Physicochemical speciation of iron during coastal algal blooms. *Mar. Chem.*, 77, 71-89
- Gonzalez, A., Cervera, M.L., Armenta, S., de la Guardia, M., **2009**. A review of non-chromatographic methods for speciation analysis. *Anal. Chim. Acta*, 636, 129-157
- Grande, J.A., Borrego, J., de la Torre, M.L., Sainz, A., **2003**. Application of cluster analisis to the geochemistry zonation of the estuary waters in the Tinto and Odiel Rivers (Huelva, Spain). *Environ. Geochem. Hlth.*, 25, 233-246
- Gray, J.S., **2002**. Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Mar. Pollut. Bull.*, 45, 46-52
- Greenaway, A.M., Rankine Jones, A.I., **1992**. Elemental concentrations in coastal sediments from Hellshire, Jamaica. *Mar. Pollut. Bull.*, 24, 390-397
- Greenway, G.M., **2002**. Chemical Speciation in the environment, 2 edition. Chapter 4: Hybrid methods of speciation. *Ed. Blackwell Science Ltdd*
- Groscher, M., Apprior, P., **1994**. Three-column system for preconcentration and speciation determination of trace metals in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 297, 369-376

- Grosell, M., McDonald, M.D., Walsh, P.J., Wood, C.M., **2004**. Effects of prolonged exposure in the marine gulf toadfish (*Opsanus beta*) II: copper accumulation, drinking rate and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity in osmoregulatory tissues. *Aquat. Toxicol.*, 68, 263-275
- Guéguen, C., Gilbin, R., Pardos, M., Dominio, J., **2004**. Water toxicity and metal contamination assessment of a polluted river: the Upper Vistula River (Poland). *Appl. Geochem.*, 19, 153-162
- Guevara-Riba, A., Sahuquillo, A., Rubio, R., Rauret, G., **2005**. Effect of chloride on heavy metal mobility of harbour sediments. *Anal. Bioanal. Chem.*, 382, 353-359
- Guía de protección ambiental, Tomo III: Catálogo de estándares ambientales, **1996**. Ed. Ministerio Federal de Cooperación Económica y Desarrollo (BMZ). ISBN 3-528-02316-3
- Gutiérrez Mas, J.M., Achab, M., Parrado Román, J.M., Moral Cardona, J.P., Sánchez Bellón, A., González Caballero, J.L., and López Aguayo, F., **1997**. Distribución de facies recientes en los fondos de la Bahía de Cádiz. *Geogaceta* 21, 139-141.
- Güven, D.E., Akinci, G., **2008**. Heavy metals partitioning in the sediments of Izmir Inner Bay. *J. Environ. Sci.*, 20, 413-418
- Hasle, J.R., Abdullah, M.I., **1981**. Analytical fractionation of dissolved copper, lead and cadmium in coastal seawater. *Mar. Chem.*, 10 (6), 487-503
- Hart, B.T., Davies, S.H.R., **1977**. A batch method for the determination of ion-exchangeable trace metals in natural waters. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 28, 397-402
- Hasselov, M., Lyvén, B., Beckett, R., **1999**. Sedimentation Field-Flow Fractionation coupled online to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry-New possibilities for studies of trace metal adsorption onto natural colloids. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 4528-4531
- Hill, S.J., **1999**. Speciation of trace metals in the environment. *Chem. Soc. Rev.*, 26, 291-296
- Hirose, K., **2006**. Chemical speciation of trace metals in seawater: a review. *Anal. Sci.*, 22, 1055-1063
- Hlavay, J., Prohaska, T., Weisz, M., Wenzel, W.W., Stingeder, G.J., **2004**. Determination of trace elements bound to soils and sediment fractions (IUPAC technical report). *Pure Appl. Chem.*, 76(2), 415-442
- Hutton, M., **1987**. Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment SCOPE 31. Chapter 3: Cadmium. Ed. T.C. Hutchinson and K.M. Meena, Published by John Wiley & sons
- INE, Instituto Nacional de Estadística, Padrón municipal, **2008**
- Ipolyi, I., Brunori, C., Cremisini, C., Fodor, P., Macaluso, L., Morabito, R., **2002**. Evaluation of performance of time-saving extraction devices in the BCR three-step sequential extraction procedure. *J. Environ. Monitor.*, 4(4), 541-548
- Isihizaki, J., Funkushima, M., **1968**. Studies on "Itai-Itai" disease (review). *Nippon eiseigaku zasshi. Japanese journal of hygiene*, 23, 271-285
- ISO, Soil Quality, **1994** -Extraction of trace metals soluble in aqua regia. Ed. International Organization of Standardization, vol. ISO-11466
- Jaworski, J.F., **1987**. Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment SCOPE 31. Chapter 1: Lead. Ed. T.C. Hutchinson and K.M. Meena, Published by John Wiley & sons



- Jiann, K.T., Presley, B.J., **2002**. Preservation and determination of trace metal partitioning in river water by two-column ion exchange method. *Anal. Chem.*, 74, 4716-4724
- Joksi, A.S., Katz, S.A., Horvat, M., Milacic, R., **2005**. Comparison of single and sequential extraction procedures for assessing metal leaching from dredged coastal sediments. *Water Air Soil Poll.*, 162 (1-4), 265-283.
- Jonnalagada, S.B., Rao, P., **1993**. Toxicity, bioavailability and metal speciation. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106C(3), 585-595
- Jouanneau, J.M., Latouche, C., Pautrizel, F., **1983**. Critical analysis of sequential extractions by the study of several constituents of extraction residues. *Environ. Technol. Lett.*, 4(12), 509-514
- Jurado González, J.A., **2003**. Metodología analítica para el análisis de cadmio en agua de mar por AdCSV-Distribución y comportamiento biogeoquímico de metales pesados en ecosistemas costeros singulares del golfo de Cádiz: Ría de Huelva y Bahía de Cádiz. Tesis doctoral, Universidad de Cádiz
- Karadede, H., Ünlü, E., **2000**. Concentrations of some heavy metals in water, sediment and fish species from the Atatürk Dam Lake (Euphrates), Turkey. *Chemosphere*, 41, 1371-1376
- Kartal, S., Aydin, Z., Tokalioglu, S., **2006**. Fractionation of metals in stream sediment samples by using the BCR sequential extraction procedure and multivariate statistical elucidation of the data. *J. Hazard. Mater.*, 132(1), 80-89
- Kennish, M.J., **1986**. Ecology of Estuaries, Vol. I: Physical and Chemical Aspects. Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida
- Kennish, M.J., **1996**. Practical handbook of Estuarine and marine pollution. Ed. CRC Press, New York
- Kersten, M., Förstner, U., **1989**. Trace element speciation: analytical methods. Chapter 8: Speciation of trace elements in sediment. Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida
- Kersten, M., **2002**. Chemical Speciation in the environment, 2 edition. Chapter 11: Speciation of trace metals in sediments. Ed. Blackwell Science Ltd
- Kiers, H.A.L., **2000**. Some procedures for displaying results from three-way methods. *J. Chemometrics*, 14, 151-170
- Köhler, H.R., Sandu, C., Scheil, V., Nagy-Petrica, E.M., Segner, H., Telcean, I., Stan, G., Triebkorn, R., **2007**. *Environ. Monit. Assess.*, 127, 47-54
- Kot, A., Namiesnik, J., **2000**. The role of speciation in analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.*, 19, 69-79
- Kozelka, P.B., Bruland, K.W., **1998**. Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay, Rhode Island. *Mar. Chem.*, 60, 267-282
- Kubová, J., Matus, P., Bujdos, M., Hagarová, I., Medved, J., **2008**. Utilization of optimized BCR three-step sequential and dilute HCl single extraction procedures for soil-plant metal transfer predictions in contaminated lands. *Talanta*, 75, 1110-1122
- Kucuksezgin, F., Kontas, A., Altay, O., Uluturhan, E., Darilmaz, E., **2006**. Assessment of marine pollution in Izmir Bay: Nutrient, heavy metal and total hydrocarbon concentrations. *Environ. Int.*, 32, 41-51

- Lama, K.S., Gray, J.S., 2003. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Mar. Pollut. Bull.*, 46, 182-186
- Larner, B.L., Seen, A.J., Townsend, A.T., **2006**. Comparative study of optimised BCR sequential extraction scheme and acid leaching of elements in the certified reference material NIST 2711. *Anal. Chim. Acta*, 556(2), 444-449
- Larner, B.L., Seen, A.J., Palmer, A.S., Snape, I., **2007**. A study of metal and metalloid contaminant availability in Antarctic marine sediments. *Chemosphere*, 67, 1967-1974
- Larner, B.L., Palmer, A.S., Seen, A.J., Townsend, A.T. **2008**. A comparison of an optimised sequential extraction procedure and dilute acid leaching of elements in anoxic sediments, including the effects of oxidation on sediment metal partitioning. *Anal. Chim. Acta*, 608, 147-157
- Laxen, D.P.H., Harrison, R.M., **1981**. A scheme for the physico-chemical speciation of trace metals in freshwater samples. *Sci. Total Environ.*, 19, 1981, 59-82
- Laxen, D.P.H., Harrison, R.M., **1983**. Physico-chemical speciation of selected metals in the treated of lead acid battery manufacturer and in the receiving river. *Water Res.*, 17 (1), 71-80
- Lewis, B.L., Landing, W.M., **1992**. The investigation of dissolved and suspended-particulate trace metal fractionation in the Black sea. *Mar. Chem.*, 40 (1-2), 105-141
- Liang, Y., Wong, M.H., **2003**. Spatial and temporal organic and heavy metal pollution at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong. *Chemosphere*, 52, 1647-1658
- Libes, S.M., **1992**. An introduction to Marine Biogeochemistry analyst. *Ed. John Wiley & Sons, New York*
- Ligero, R.A., Barrera, M., Casas-Ruiz, M., Sales, D., López-Aguayo, F., **2002**. Dating of marine sediments and time evolution of heavy metal concentrations in the Bay of Cádiz, Spain. *Environ. Pollut.*, 118, 97-108
- Lihareva, N., Petrov, O., Tzvetanova, Y., **2006**. Application of the BCR sequential extraction procedure to studying the partitioning of metals in sewage sludge and sediments. *Bulgarian Chemical Communications*, 38(2), 131-139
- Linde-Arias, A.R., Inácio, A.F., Alburquerque, C., Freire, M.M., Moreira, J.C., **2008**. Biomarkers in a invasive fish species, *Oreochromis niloticus*, to assess the effects of pollution in a highly degraded brazilian river. *Sci. Total Environ.*, 399, 186-192
- Liu, Y., Ingle, J.D., **1989a**. Two-column ion-exchange method for the determination of copper-complexing capacity and conditional stability constants of copper complexes for ligands in natural waters. *Talanta*, 36 (1-2), 185-192
- Liu, Y., Ingle, J.D., **1989b**. Measurement and compensation for metal complex dissociation in speciation studies with an automated two-column ion-exchange system. *Anal. Chim. Acta*, 222, 279-289
- Liu, Y., Ingle, J.D., **1989c**. Automated two-column ion exchange system for determination of the speciation of trace metals in natural waters. *Anal. Chem.*, 61, 525-529
- Long, E.R., MacDonald, D.D., Smith, S.L., and Calder, F.D., **1995**. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ. Manage.*, v. 19, No 1, 81-87

- López-Arroyo, J., Morales, J.A., Guitiérrez Mas, J.M., **2006**. Descripción de las facies presentes en el relleno holoceno del sector externo de la Bahía de Cádiz. *Geogaceta*, 39, 135-138
- López-González, Borrego, J., Carro, B., Lozano-Soria, O., **2005**. Factores de enriquecimiento metálico en sedimentos holocenos del estuario del río Tinto (SO de España). *Geogaceta*, 37, 223-226
- López-González, N., Borrego, J., Morales, J.A., Carro, B., Lozano-Soria, O., **2006**. Metal fractionation in oxic sediments of an estuary affected by acid mine drainage (south-western Spain). *Estuar. Coast. Shelf S.*, 68, 297-304
- López-Sánchez, J.P., Sahuquillo, A., Fiedler, H.D., Ruboi, R., Rauret, G., Muntau, H., Quevauviller, Ph., **1998**, CRM 601, material for is extractable content of heavy metals. *Analyst*, 123, 1675-1677
- Lyvén, B., Hasselov, M., Haraldsson, C., Turner, D.R., **1997**. Optimisation of on-channel preconcentration in flow field-flow fractionation for the determination of size distributions of low molecular weight colloidal material in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 357, 187-196
- Macauley, J.M., Summers, J.K., Engle, V.D., Harwell, C., **2002**. The ecological condition of south florida estuaries. *Environ. Monit. Assess.*, 75, 253-269
- MacDonald, D.D., Ingersoll, C. G., Berger, T.A., **2000**. Development and evalution of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystem. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 39, 20-31
- Malik, D.S., Sastry, K.V., **1998**. Effects of zinc toxicity on biochemical composition of muscle and liver of murrel (*CHANNA PUNCTATUS*). *Environ. Int.*, 24, 433-438
- Marín Galvín, R., **1996**. Química, microbiología, tratamiento y control analítico de aguas: una introducción al tema. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba, Textos e Instrumentos nº 58, 243 pp
- Marín Galvín, R., **2006**. Físicoquímica y microbiología de los medios acuáticos: tratamiento y control de la calidad de aguas. *Eds. Diaz de Santos*, España
- Marmolejo-Rodriguez, A.J., Cobelo-Garcia, A., Prego, R., **2007**. Background values, distribution and contamination of metals in the sediments of the Pontevedra Ria (NW Spain). *Soil & Sediment Contamination*, 16, 557-568
- Martín-Díaz, M.L., Riba, I., Casado-Martinez, M.C., Del Valls, A., **2006**. Biodisponibilidad de metales en sedimentos de estuarios españoles utilizando *Carcinus maenas* bioavailability of metals in sediments from Spanish estuarios using *Carcinus maenas*. *Cienc. Mar.*, 32, 412-420
- Martínez-Sánchez, M.J., Navarro, M.C., Pérez-Sirvent, C., Marimón, J., Vidal, J., García-Lorenzo, M.L., Bech, J., **2008**. Assessment of the mobility of metals in a mining-impacted coastal area (Spain, Western Mediterranean). *J. Geochem. Explor.*, 96, 171-182
- Martino, M., Turner, A., Nimmo, M., Millward, G.E., **2002**. Resuspension, reactivity and recycling of trace metals in the Mersey Estuary, UK. *Mar. Chem.*, 77, 171-186
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., **2006**. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. *Sci. Total Environ.*, 370, 133-146

- Medio ambiente en Andalucía Informe **2008**. Ed. *Consejería del Medio Ambiente de la Junta de Andalucía*. ISBN: 978-84-92807-07-9
- Meng-Hsien, C., **2002**. baseline metal concentrations in sediments and fish, and the determination of bioindicators in the subtropical Chi-Ku lagoon, S.W. Taiwán. *Mar. Pollut. Bull.*, 44, 703-714
- Michalke, B., **1999**. Quality control and reference materials in speciation analysis. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 363,439-445
- Michalke, B., **2003**. Element speciation definitions, analytical methodology and some examples. *Ecotox. Environ. Safe.*, 56, 122-139
- Moffett, J.W., Zika, R.G., **1988**. Measurement of copper (I) in surface waters of the subtropical Atlantic and Gulf of Mexico. *Geochim. Cosmochim.*, 52 (7), 1849-1857
- Mojeta, A., Ghisetti, A., **1994**. Flora e fauna del mediterraneo. Ed. *Arnoldo Mondadori S.p.a.*, Milan, I.S.B.N.: 88-01-38574-X
- Morillo, J., Usero, J., Gracia, I. **2002**. Partitioning of metals in sediments from the Odiel river (Spain). *Environ. Int.*, 28, 263 – 271
- Morillo, J., Usero, J., Gracia, I. **2003**. Heavy metal fractionation in sediments from the Tinto river (Spain). *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 82(4), 245 - 257
- Morillo, J., Usero, J., **2008**. Trace metal bioavailability in the waters of two different habitats in Spain: Huelva estuary and Algeciras Bay. *Ecotox. Environ. Safe.*, 71, 851-859
- Morris, A.W., **1984**. Estuarine chemistry and general survey strategy. En: *Practical Estuarine Chemistry*. Ed. *Head, P.C., Cambridge University Press, Cambridge*
- Mossop, K.F., Davidson, C.M., **2003**. Comparison of original and modified BCR sequential extraction procedures for the fractionation of copper, iron, lead, manganese and zinc in soils and sediments. *Anal. Chim. Acta*, 478(1), 111-118
- Murphy, D.M., Garbarino, J.R., Taylor, H.E., **1993**. Determination of size and element composition distributions of complex colloids by sedimentation field-flow fractionation—inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Chromatography A*, 642 (1-2), 459-467
- Mzimela, H.M., Wepener, V., Cyrus, D.P., **2003**. Seasonal variation of selected metals in sediments, water and tissues of the groovy Mollet, *Liza dumerelli* (Mugilidae) from the Mhlathuze Estuary, South Africa. *Mar. Pollut. Bull.*, 46, 659-676
- Nguyen, H.L., Leermakers, M., Elskens, M., Ridder, F., Doan, T.H., Baeyens, W., 2005. Correlations, partitioning and bioaccumulation of heavy metals between different compartments of lake Balaton. *Sci. Total Environ.*, 341, 211-226
- Nieboer, E., Richardson D.H.S., **1980**. The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environ. Pollut. B*, 1, 3-26
- Niedzielski, P., Siepak, J., Kowalezuk, Z., **1999**. Speciation analysis of Arsenic, Antimony and selenium in the Surface Waters of Poznań. *Pol. J. Environ. Stud.*, Vol. 8, No 3, 183-187
- Nirel, P.M.V., Morel, F.M.M., **1990**. Pitfalls of sequential extractions. *Water Res.*, 24(8), 1055-1056
- NOAA SQUIRTs (Screening Quick Reference Tables). Office of response and restoration: NOAA's National Ocean Service

- <http://response.restoration.noaa.gov/>
- Nordberg, M., Templeton, D.M., Andersen, O., Duffus, J.H., **2009**. Glossary of terms used in ecotoxicology (IUPAC Recomendatios 2009). *Pure Appl. Chem.*, 81(5), 829-970
- Nordic Council of Minister, **2003**. Cadmium review.
- Oremland, R.S., Stolz, J.F., **2003**. The ecology of arsenic. *Science*, 300, 939-944
- Oss-Giacomelli, M.B., et al., **2002**. Fractionation of Cd and Pb in BCR No. 601 sediment reference material following the BCR protocol for a sequential extraction and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 17(10), 1339-1343
- Owens, R.E., Balls, P.W., **1997**. Dissolved trace metals in the Tay Estuary. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 44, 421-434
- Öztürk, M., Bizsel, N., Steinnes, E., **2003**. Iron speciation in eutrophic and oligotrophic Mediterranean coastal waters, impact of phytoplankton and protozoan blooms on iron distribution. *Mar. Chem.*, 81, 19-36
- Palaniappan, P.L.R.M., Renju, V.B., **2009**. FT-IR study of the effect of zinc exposure on the biochemical contents muscle of *Labeo rohita*. *Infrared Phys. Techn.*, 52, 37-41
- Pantazidou, M., Kapniaris, S., Katsiri, A., Christidis, A., **2007**. Pollutant trends and hazard ranking in Elefsis Bay, Greece. *Desalination*, 210, 69-82
- Pardo, R., Helena, B.A., Cazorro, C., Guerra, C., Debán, L., Guerra, C.M., Vega, M., **2004**. Application of two- and three-way principal component análisis to the interpretation of chemical fractionation results obtained by use of the B.C.R. procedure. *Anal. Chim. Acta*, 523, 125-132
- Pastor, A., Hernández, F., Peris, M.A., Beltrán, J., Sancho, J.V., Castillo, M.T., **1994**. Levels of heavy metals in some marine organisms from the western Mediterranean area (Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 28, 50
- Peijnenburg, W.J.G.M., Jager, T., **2003**. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: matrix issues. *Ecotox. Environ. Safety*, 56, 63-77
- Pendón, J.G., **1999**. La Costa de Huelva. Una introducción a los procesos y productos sedimentarios. *Servicio de Publicaciones. Universidad de Huelva*.
- Pérez-Bendito, D., Rubio, S., **1999**. Comprehensive analytical chemistry: Volume XXXII: Environmental analytical chemistry. *Wilson & Wilson, Ed. S.G. Weber, ELSEVIER*, 842pp
- Pérez-Santana, S., Pomares Alfonso, M., Villanueva Tagle, M., Peña Icart, M., Brunori, C., Morabito, R., **2007**. Total and parcial digestión of sediments for the evaluation of trace element environmental pollution. *Chemosphere*, 66, 1545-1553
- Persaud, D., Jaagumagi, R., Hayton, A., **1993**. Guidelines for the protection and management of aquatic sediment quality in Ontario. *Ed. Queen`s Printer for Ontario*, 24pp
- Pesavento, M., Biesuz, R., Baffi, F., Gnecco, C., **1999**. Determination of metal ions concentration and speciation in seawater by titration with an iminodiacetic resin. *Ana Chim Acta*, 401, 265-276
- Phillips, D.J.H., Richardson, B.J., Murray, A.P., Fabris, J.G., **1992**. Trace metals, Organochlorines and hydrocarbons in Port Phillip Bay, Victoria: a historical review. *Mar. Pollut. Bull.*, 25, 200-217

- Pickering, L.W.F., **1986**. Metal ion speciation – soils and sediments (a review). *Ore Geol. Rev.*, 1, 83-146
- Pickering, L.W.F., **2002**. Chemical Speciation in the environment, 2 edition. Chapter 2: General strategies for speciation. *Ed. Blackwell Science Ltd*
- Ping, R., Bogdal, Z., Prusisz, B., **2004**. Modified BCR sequential extraction method for lead speciation in sediments. *Wutan Yu Huatan*, 28(3), 221-223
- Point, D., Bareille, G., Pinaly, H., Belin, C., Doard, O.F.X., **2007**. Multielemental speciation of trace elements in estuarine waters with automated on-sited UV photolysis and resin chelation coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*, 72, 1207-1216
- Pourang, N., Nikouyan, A., Dennis, J.H., **2005**. Trace element concentrations in fish, surficial sediments and water from northern part of the Persian gulf. *Environ. Monit. Assess.*, 109, 293-316
- Power, M., Attrill, M.J., Thomas, R.M., **1999**. Heavy metal concentration trends in the Thames Estuary. *Wat. Res.*, 33, 1672-1680
- Pueyo, M., Rauret, G., Lück, D., Yli-Halla, M., Muntau, H., Quevauviller, Ph., López-Sánchez, J.F., **2001**. Certification of the extractable contents of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a freshwater sediment following a collaboratively tested and optimised three-step sequential procedure. *J. Environ. Monit.*, 3, 243-250
- Putisek, N., Milacic, R., Veber, M., **2001**. Use of the BCR three-step sequential extraction procedure for the study of the partitioning of Cd, Pb, and Zn in various soil samples. *Journal of Soils and Sediments*, 1(1), 25-29
- Pyle, G.G., Rajotte, J.M., Couture, P., **2005**. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotox. Environ. Safe.*, 61 287-312
- Quevauvillier, Ph., Ure, A.M., Muntau, H., Griepnik, B., **1993**. Improvement of analytical measurements within the BCR-programme: single and sequential extraction procedures applied to soil and sediment analysis. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 129-134
- Quevauvillier, Ph., Rauret, G., Muntau, H., Ure, A.M., Rubio, R., López-Sánchez, J.F., Fielder, H.D., Griepink, B., **1994**. Evaluation of a sequential extraction procedure for the determination of extractable trace metal contents in sediments. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 349, 808-814
- Quevauvillier, Ph., **1996**. Atomic spectrometry hyphenated to chromatography for elemental speciation: performance assessment within the standards, measurements and testing program (Community Bureau of Reference) of the European Union. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11(12), 1225-1231
- Quevauvillier, Ph., Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Rubio, R., Ure, A.M., Muntau, H., **1997**. Certification of the trace metal extractable contents in a sediment reference material (CRM 601) following a three-step sequential extraction procedure. *Sci. Total Environ.*, 205, 223-234
- Quevauvillier, Ph., **1998a**. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis I. Standardization. *Trends Anal. Chem.*, 17(5), 289-298
- Quevauvillier, Ph., **1998b**. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis II. Certified reference materials. *Trends anal. Chem.*, 17(10), 632-642

- Rashed, M.N., **2001**. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environ. Int.*, 27, 27-31
- Rauret, G. **1998**. Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta*, 46, 449-455
- Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Sahuquillo, A., Rubio, R., Davidson, C.M., Ure, A.M., Quevauviller, Ph., **1999**. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of the new sediment and soil reference materials. *J. Environ. Monit.*, 1, 57-61
- Rauret, G., López-Sánchez, J.F., **2001**. New sediment and soil CRMs for extractable trace metal content. 79(1), 81-95
- Reglamento (CE) N° 466/**2001** de la comisión de 8 de marzo de 2001 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea, 16.3.2001, L 77/1-L 77/13.
- Reglamento (CE) N° 1881/**2006** de la comisión de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea, 20.12.2006, L 364/5-L 364/24.
- Repetto, M., **1995**. Toxicología avanzada. Ed. Díaz Santos, S.A., Madrid
- Rickard, D.G., Duley, M.E.R., **1983**. The levels of some heavy metals and chlorinated hydrocarbons in fish from the Tidal Thames. *Environ. Pollut.*, 5, 101-119
- Riba, I., DelValls, A., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., **2002**. Monitoring the impact of the Aznalcóllar mining spill on recent sediments from Guadalquivir Estuary, Southwest Spain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69, 129-138
- Rodríguez Procopio, J., Ortiz Viana, M.M., Hernández Hernández, L., **1997**. Microcolumn ion-exchange method for kinetic speciation of copper and lead in natural water. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 3081-3085
- Rosales-Hoz, L., Cundy, A.B., Bahena-Majarrez, J.L., **2003**. Heavy metals in sediment cores from a tropical estuary affected by antropogenic discharges: Coatzacoalcos estuary, Mexico. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 58, 117-126
- Rosas Rodríguez, H., **2001**. Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat. Tesis doctoral, Universitat Politècnica de Catalunya.
- Roychoudhury, A.N., Starke, M.F., **2006**. Partitioning and mobility of trace metals in the Blesbokspruit, Impact assessment of dewatering of mine waters in the East Rand, South Africa. *Appl. Geochem.*, 21, 1044-1063
- Rubio, B., Nombela, M.A., Vilas, F., **2000**. Geochemistry of major and trace elements in sediments of the Ria de Vigo (NW Spain): an assessment of metal pollution. *Mar. Pollut. Bull.*, 11, 968-980
- Rufo, L., Rodríguez, N., Amils, R., de la Fuente, V., Jiménez-Ballesta, R., **2007**. Surface geochemistry of soils to the Tinto River (Huelva, Spain). *Sci. Total Environ.*, 378, 223-227
- Ruiz, F., González-Regalado, M.L., Borrego, J., Morales, J.A., Pendón, J.G., Muñoz, J.M., **1998**. Stratigraphic sequence, elemental concentrations and heavy metal pollution in holocene sediments from the Tinto-Odiel estuary, Southwestern Spain. *Environmental Geology*, 34, 270-278

- Sahuquillo, A., López-Sánchez, J.F., Rubio, R., Rauret, G., Thomas, E.A., Davidson, C.M., Ure, A.M., **1999**. Use of certified reference materials for extractable trace metals to assess sources of uncertainty in the BCR three-stage sequential extraction procedure. *Anal. Chim. Acta*, 382(3), 317-327
- Sahuquillo, A., Pinna, D., Rauret, G., Muntau, H., **2000**. Modified three-step sequential extraction scheme applied to metal determination in sediments from lake Flumendosa (Sardinia, Italy). *Fresenius Environmental Bulletin*, 9(5/6), 360-372
- Sahuquillo, A., et al., **2003a**. Mercury determination in solid phases from application of the modified BCR-sequential extraction procedure: a valuable tool for assessing its mobility in sediments. *Anal. Bioanal. Chem.*, 375(4), 578-583
- Sahuquillo, A., Rauret, G., Rehnert, A., Muntau, H., **2003b**. Solid sample graphite furnace atomic absorption spectroscopy for supporting arsenic determination in sediments following a sequential extraction procedure. *Anal. Chim. Acta*, 476(1), 15-24
- Sáinz, A., **2000**. AMD un problema mundial. *Medioambiente*, 33, 48-53
- Sáinz, A., Grande J.A., de la Torre, M.L., **2003**. Odiel river, acid mine drainage and current characterisation by means of univariate analysis. *Environ. Int.*, 29, 51-59
- Sáinz, A., Grande J.A., de la Torre, M.L., **2004**. Characterisation of heavy metal discharge into the Ria of Huelva. *Environ. Int.*, 30, 557-566
- Sáinz, A., Grande J.A., de la Torre, M.L., **2005**. Application of a systemic approach to the study of pollution of the Tinto and Odiel rivers (SPAIN). *Environ. Monit. Assess.*, 102, 435-445
- Salomons, W., **1993**. Adoption of common schemes for single and sequential extraction of trace metal in soils and sediments. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51(1-4), 3-4
- Sanchez, J.E., **1994**. Speciation of metals in environment samples. *Química e Industria*, 41 (2), 25-34
- Sánchez España, J., López Pamo, E., Santofimia E., Aduvire, O., Reyes, J., Barettino D., **2005**. Acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (Odiel river watershed, Huelva, SW Spain): Geochemistry, mineralogy and environmental implications. *Appl. Geochem.*, 20, 1320-1356
- Sánchez Moyano, E., García Asencio, I., García Adiego, E., Leal Gallardo, A., Ollero de Castro, C., Fraidiás Amarillo, J., **2005**. Vigilancia ecológica del litoral andaluz (I). Monitorización de la macrofauna del sedimento y calidad ambiental de los fondos sublitorales. *Ed. Junta de Andalucía - Consejería del Medio Ambiente*, I.S.B.N.: 84-96329-46-1
- Sanz-Medel, A., Fernandez de la Campa, M.R., Blanco Gonzalez, E., Fernandez-Sanchez, M.L., **1999**. Organised surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry. *Spectrochim. Acta B*, 54, 251-287
- Sarmiento, A.M., Nieto, J.M., Olías M., **2004**. (technical note) The contaminant load transported by river Odiel to the Gulf of Cádiz (SW Spain). *Trans. Inst. Min. Metall. B*, Vol.113, 117-122
- Sarzanini, C., Mentasti, E., **1997**. Determination and speciation of metals by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 789, 301-321
- Sharma, R.K., Agrawal, M., Marshall, F.M., **2008**. Heavy metal (Cu, Zn, Cd, and Pb) contamination of vegetables in urban India, A case study in Varanasi. *Environ. Pollut.*, 154, 254-263



- Sigg, L., Black, F., Buffle, J., Cao, J., Cleven, R., Davidson, W., Galceran, J., Gunkel, P., Kalis, E., Kistler, D., Martin, M., Nol, S., Nur, Y., Odzak, N., Puy, J., van Rimsdijk, W., Temminghoff, E., Tercier Waeber, M.L., Toepperwien, S., Town, R.M., Unsworth, E., Warnken, K.W., Weng, L., Xue, H., Zhang, H., **2006**. Comparasion of analytical techniques for dynamic trace metal speciation in natural freshwaters. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 1934-1941
- Simon, C.A., Batley, G., Maher, W., **2002**. Environmental monitoring handbook. Chapter 6: Monitoring of trace metals and metalloids in natural water. *Ed. McGraw-Hill, New York*
- Skogerboe, R.K., Wilson, S.A., Osteryoung, J.G., **1980**. Exchange of comments on scheme for classification of heavy metal species in natural waters. *Anal. Chem.*, 52(12), 1960-1962
- Smith, R.G., **1976** Evaluation of combined applications of ultrafiltration and complexation capacity techniques to natural waters. *Anal. Chem.*, 48 (1), 74-76
- Soltan, M.E., Moalla, S.M.N., Rashed, M.N., Fawzy, E.M., **2005**. Physicochemical characteristics and distribution of some metals in the ecosystem of Lake Nasser, Egypt. *Toxicol. Environ. Chem.*, 87(2), 167-197
- Spencer, K.L., Macleod, C.L., Tuckett, A., Johnson, S.M., **2006**. Source and distribution of trace metals in the Medway and Swale estuariesw, Kent, UK. *Mar. Pollut. Bull.*, 52, 214-238
- Stanimirova, I., Zehl, K., Massart, D.L., Heyden, Y.V., Einax, J.W., **2006** , Chemometric analysis of soil pollution data using the Tucker N-way method. *Anal. Bioanal. Chem.*, 385, 771-779
- Stevenson, F.J., **1994**. Humus chemistry. *Ed. John Wiley & Sons, New York*
- Storelli, M.M., Marcotrigiano, G.O., **2001**. Heavy metal monitoring in fish, bivalve, molluscs, water, and sediments from Varano lagoon, Italy. *Bull. Environ.Contam. Toxicol.*, 66, 365-370
- Sun, H., **1982**. Analysis of metal speciation by combined chromatography and atomic absorption. *Fenxi Huaxue*, 10(2), 117-224
- Sutherland, R.S., Tack, F.M.G., **2002**. Determination of Al, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in Certified reference materials using the optimized BCR sequential extraction procedure, *Anal. Chim. Acta*, 454(2), 249-257
- Svete, P., Milacici, R., Pihlar, B., **2001**. Partitioning of Zn, Pb, and Cd in river sediments from a lead and zinc mining area using the CR three-step sequential extraction procedure. *J. Environ. Monit.* 3(6), 585-590
- Szefer, P., Szefer, K., **1991**. Concentration and discrimination factors for Cd, Pb, Zn, and Cu in benthos of Puck Bay, Baltic sea. *Sci, Total Environ*, 105, 127-133
- Szefer, P., **2002**. Trace metals in the environment volume 5: Metals, metalloids and radionuclides in the Baltic Sea ecosystem. *Ed. Elsevier Science B.V., Amsterdam*
- Szpunar, J., Lobinski, R., **1999**. Speciation in the environmental field – trends in analytical chemistry. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 363, 550-557
- Tack, F.M., Verloo, M., **1995**. Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review. *Int. J. Environ. An. Ch.*, 59, 225-238
- Tanizaki, Y., Shimokawa, T., Nakamura, M., **1992**. Physicochemical speciation of trace elements in river waters by size fractionation. *Environ. Sci. Technol*, 20, 1433-1444

- Taylor, S.R., **1964**. Abundance of chemical elements in the continental crust: a new table. *Geochim. Cosmochim. ac.*, 28, 1273-1285
- Templeton, D.M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L.G. Muntau, H., Van Leeuwen, H.P., Lobinski, A.R., **2000**. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC recommendation 2000). *Pure Appl. Chem.*, 72, 1453-1470
- Tercier-waeber, M.L., Taillefert, M. **2008**. Remote in situ voltametric techniques to characterize the biogeochemical cycling of trace metals in aquatic systems. *J. Environ. Monitor.*, 10, 30-50
- Tokalioglu, S., Kartal, S., Elci, L., **2000**. Determination of heavy metals and their speciation in lake sediments by flame atomic absorption spectrometry after a four-stage sequential extraction procedure. *Anal. Chim. Acta*, 413(1-2), 33-40
- Tovar, A., **2000**. Desarrollo de métodos automatizados para la determinación de micronutrientes: Evaluación del impacto ambiental en acuicultura marina intensiva. Tesis doctoral, Universidad de Cádiz
- Town, R.M., Filella, M., **2000**. A comprehensive systematic compilation of complexation parameters reported for trace metals in natural waters. *Aquat. Sci.*, 62, 252-295
- Throwbridge, P.R., Jones, S.H., **2009**. Detecting water quality patterns in New Hampshire's estuaries using National Coastal Assessments probability-based survey data. *Environ. Monit. Assess.*, 150, 129-142
- Turekian, K., Wedepohl, K., **1961**. Distribution of the elements in some mayor units of the earth's crust. *Geol. Soc. Am. Bull.*, 72, 175-192
- Türkmen, A., Türkmen, M., Tepe, Y., Akyurt, I., **2005**. Heavy metals in three commercially valuable fish species from Iskenderun Bay, Nothern East Mediterranean sea, Turkey. *Food Chem.*, 91, 167-172
- Tuzen, M., **2003**. Determination of trace metals in the river Yesilirmak sediments in Tokat, Turkey using sequential extraction procedure. *Microchem. J.*, 74(1), 105-110
- Ure, A.M., Quevauviller, P., Muntau, H., Griepink, B., **1993a**. Improvements in the determinations of extractable contents of trace metals in solils and sediments prior to certification, *EUR 1473 EN, Commission of the European Communities, Brussels-Luxembourg*, pp 85
- Ure, A. M., Quevauviller, P., Muntau, H., Griepink, B., **1993b**. Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* , 51, 135-51
- Ure, A.M., Davidson, C.M., Thomas, C.M., **1995**. Quality assurance for environmental analysis. Chapter 20: Single and sequential extraction schemes for trace metal speciation in soil and sediment. *Ed. Quevauviller, Ph, Maier, E.A. and Griepink, B, Elsevier*
- Ure, A.M, Davidson, C.M., **2002**. Chemical Speciation in the environment, 2 edition. *Ed. Blackwell Science Ltd*
- US EPA (United States Environmental Protection Agency), **2002**. National Recommended Water Quality Criteria. EPA-822-r-02-047, Office of Science and Tecnology

- Usero García, J., González-Regalado, E., Gracia, I., **1996**. Trace metals in the bivalve mollusc *chamelea gallina* from the Atlantic Coast of Southern Spain. *Mar. Pollut. Bull.*, 32, 305 – 310
- Usero García, J., González-Regalado, E., Gracia, I., **1997**. Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the Atlantic coast southern Spain. *Environ. Int.*, 23, 291 – 298
- Usero García, J., Morillo Aguado, J., Gracia Manarillo, I., Leal Gallardo, A., Ollero de Castro, C., Fraidías Amarillo, J., Pedro Fernández, A., **2000**. Contaminación metálica y toxicidad en los sedimentos de los ríos Tinto y Odiel. *Ed. Junta de Andalucía – Consejería del Medio Ambiente*, I.S.B.N.: 84-89650-91-8
- Usero, J., Izquierdo, C., Morillo, J., Gracia, I., **2003**. Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Environ. Int.*, 29, 949-956
- Usero, J., Morillo, J., Gracia, I., **2005**. Heavy metal concentrations in mollusc from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*, 59, 1175-1181
- Uysal, K, Emre, Y., Köse, E., **2008**. The determination of heavy metal accumulation ratios in muscle, skin and gills of some migratory fish species by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Beymelek Lagoon (Antalya/Turkey). *Microchem. J.*, in press
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., **2003**. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Phar.*, 13, 57-149
- Van Gestel, C., van Brummelen, T.C., **1996**. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for the redefinition of terms. *Ecotoxicology*, 5, 217-225
- Van Loon, J.C., **1981**. Review of methods for elemental speciation using atomic spectrometry detectors for chromatography. *Can. J. Spectrosc.*, 26(4), 22A-32A
- Vasconcelos, M.T.S.D., Leal, M.F.C., **2001**. Antagonist interactions of Pb and Cd on Cu uptake, growth inhibition and chelator release in the marine algae *Emiliania huxleyi*. *Mar. Chem.*, 75, 123-139
- Vasconcelos, M.T.S.D., Leal, M.F.C., Van der Berg, C.M.G., **2002**. Influence of the nature of the exudates released by different marine algae on the growth, trace metal uptake and exudation of *Emiliania huxleyi* in natural seawater. *Mar. Chem.*, 77, 187-210
- Waite, T.D., **1989**. Trace element speciation: analytical methods. Chapter 5: Mathematical modelling of trace element speciation. *Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida*
- Wang, S., Cao, Z., Lan, D., Zheng, Z., Li, G., **2008**. Concentration distribution and assessment of several in sediments of west-four Pearl River Estuary. *Environ. Geol.*, 55, 963-975
- Wang, W.X., Dei, R.C.H., **2001**. Biological uptake and assimilation of iron by marine plankton: influences of macronutrients. *Mar. Chem.*, 74, 213-226
- Wang, H., Wang, C.X., Wang, Z.J., **2004**. Fractionation of heavy metals in surface sediments of Taihu Lake, East China. *Environ. Geochem. Hlth.*, 26(2-3), 303-309
- Warren, L.A., Haack, E.A., **2001**. Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments. *Earth Sci. Rev.*, 54, 261-320

- Wei, M., Yanwen, Q., Binghui, Z., Lei, Z., **2008**. Heavy metal pollution in Tianjin Bohai Bay, China. *J. Environ. Scienc.*, 20, 814-819
- Wen, L.S., Stordal, M.C., Tang, D.T., Meter, G.A., Santschi, H., **1996**. An ultraclean cross-flow ultrafiltration techniques for the study of trace metal phase speciation in seawater. *Mar. Chem.*, 55, 129-152
- Whitfield, M., Turner, D.R., **1987**. The role of particles in regulating the composition of seawater. *Aquatic Surface Chemistry Ed. W. Stumm: John Wiley & Sons, New York*
- Worms, I., Simon, D.F., Hassler, C.S., Wilkinson, K.J., **2006**. Bioavailability of trace metals to aquatic microorganisms: importance of chemical, biological and physical processes on biouptake. *Biochimie*, 88, 1721-1731
- Wright, D., Welbourn, P., **2001**. Environmental toxicology. *Ed. Cambridge University Press, USA*
- www.belt.es-legislación vigente  
[http://www.belt.es/legislacion/vigente/Medio ambiente/index.htm](http://www.belt.es/legislacion/vigente/Medio_ambiente/index.htm)
- www.marm.es  
[http://www.mma.es/portal/secciones/biblioteca\\_publicacion/biblioteca/busqueda\\_biblio/contenedoraspa.html?ma2spa.html](http://www.mma.es/portal/secciones/biblioteca_publicacion/biblioteca/busqueda_biblio/contenedoraspa.html?ma2spa.html)
- www.mma.es  
[http://www.mma.es/portal/secciones/biblioteca\\_publicacion/biblioteca/busqueda\\_biblio/contenedoraspa.html?ma2spa.html](http://www.mma.es/portal/secciones/biblioteca_publicacion/biblioteca/busqueda_biblio/contenedoraspa.html?ma2spa.html)
- Zhou, H.Y., Cheung, R.Y.H., Chan, K.M., Wong, M.H., **1998**. Metal concentrations in sediments and *Tilapia* collected from inland water of Hong Kong. *Wat. Res.*, 32, 3331-3340
- Zhou, J., Dongsheng, M., Pan, J., Nie, W., Wu, K., **2008**. Application of multivariate statistical approach to identify heavy metal sources in sediment and waters: a case of study in Yangzhong, China. *Environ. Geol.*, 54, 373-380
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., **2008b**. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta*, 606, 135-150